

JPW

Patent
57354-11USA

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: PARK, Jong-Gu et al.,) Group Art Unit: 1634
Serial No.: 10/627,882) Examiner: MARTINELL, JAMES
Filed: July 25, 2003) Confirmation No.: 3831
Title: LARGE CIRCULAR SENSE MOLECULE)
ARRAY)

Mail Stop Amendment
Commissioner for Patents
P. O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT

Sir:

In response to the Office Action dated February 17, 2006, in connection with the above-identified application, enclosed is priority document, Korean patent application no. 10-2002-0044411, filed July 27, 2002.

CERTIFICATE OF TRANSMISSION
(37 C.F.R. § 1.8a)

I hereby certify that this paper (along with any referred to as being attached or enclosed) is being mailed Priority Mail to Mail Stop Amendment, Commissioner for Patents, P. O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

Joseph Hyosuk Kim
Name of Person Transmitting Paper

August 23, 2006
Date of Transmission


Signature of Person Transmitting Paper

Serial No. 10/627,882

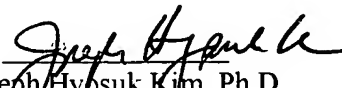
Patent
57354-11USA

The Commissioner is authorized to charge JHK Law's Deposit Account No. **502486**
for any fees required under 37 CFR § 1.16 and 1.17 and to credit any overpayment to said
Deposit Account No. **502486**.

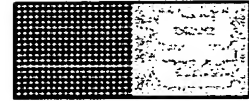
Respectfully submitted,

JHK Law

Dated: August 23, 2006

By: 
Joseph Hybsuk Kim, Ph.D.
Reg. No. 41,425

P.O. Box 1078
La Canada, CA 91012-1078
(818) 249-8177 - direct
(818) 249-8277 - fax



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원번호 : 10-2002-0044411

Application Number

출원년월일 : 2002년 07월 27일

Date of Application JUL 27, 2002

출원인 : 주식회사 웰진

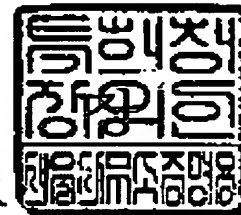
Applicant(s) WELGENE INC.



2006년 06월 14일

특허청

COMMISSIONER



◆ This certificate was issued by Korean Intellectual Property Office. Please confirm any forgery or alteration of the contents by an issue number or a barcode of the document below through the KIPOnet- Online Issue of the Certificates' menu of Korean Intellectual Property Office homepage (www.kipo.go.kr). But please notice that the confirmation by the issue number is available only for 90 days.

【서지사항】

【서류명】	명세서 등 보정서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2004.08.26
【제출인】	
【명칭】	주식회사 웰진
【출원인코드】	1-2000-027883-4
【사건과의 관계】	출원인
【대리인】	
【성명】	김석현
【대리인코드】	9-1998-000634-1
【포괄위임등록번호】	2002-008502-3
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0044411
【출원일자】	2002.07.27
【심사청구일자】	2002.07.27
【발명의 명칭】	단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩
【제출원인】	
【발송번호】	9-5-2004-0258305-25
【발송일자】	2004.06.29
【보정할 서류】	명세서등
【보정할 사항】	
【보정대상항목】	별지와 같음
【보정방법】	별지와 같음
【보정내용】	별지와 같음

【취지】 특허법시행규칙 제13조 실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위
와 같 이 제출합니다.

대리인

김석현 (인)

【수수료】

【보정료】 3,000 원

【추가심사청구료】 0 원

【기타 수수료】 0 원

【합계】 3,000 원

【첨부서류】 1. 보정내용을 증명하는 서류_1통

【보정서】

【보정대상항목】 청구항 1

【보정방법】 정정

【보정내용】

【청구항 1】

탐침 DNA가 단일가닥 환형 분자 형태로 기판 상에 고정화된 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【서지사항】

【서류명】	서지사항 보정서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.08.02
【제출인】	
【명칭】	주식회사 웰진
【출원인코드】	1-2000-027883-4
【사건과의 관계】	출원인
【대리인】	
【성명】	김석현
【대리인코드】	9-1998-000634-1
【포괄위임등록번호】	2002-008502-3
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0044411
【출원일자】	2002.07.27
【심사청구일자】	2002.07.27
【발명의 명칭】	단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩
【제출원인】	
【접수번호】	1-1-02-0241888-18
【접수일자】	2002.07.27
【보정할 서류】	특허출원서
【보정할 사항】	
【보정대상항목】	첨부서류
【보정방법】	제출
【보정내용】	
【첨부서류】	1.기타첨부서류[중소기업법시행령 제2조에 의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류]_1통

【취지】 특허법시행규칙 제13조 실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위
와 같 이 제출합니다.

대리인

김석현 (인)

【수수료】

【보정료】 0 원

【기타 수수료】 0 원

【합계】 0 원

【첨부서류】 1.기타첨부서류[원천징수이행상황신고서]_1통 2.기타첨부서
류[사업자등록증]_1통

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.07.27
【발명의 국문명칭】	단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩
【발명의 영문명칭】	DNA chip using a probe DNA with single stranded large circular molecules
【출원인】	
【명칭】	주식회사 웰진
【출원인코드】	1-2000-027883-4
【대리인】	
【성명】	김석현
【대리인코드】	9-1998-000634-1
【포괄위임등록번호】	2002-008502-3
【대리인】	
【성명】	황주명
【대리인코드】	9-1998-000597-5
【포괄위임등록번호】	2002-008503-1
【발명자】	
【성명】	박종구
【출원인코드】	4-1999-027722-1
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이윤한
【성명의 영문표기】	LEE, Yun-Han
【주민등록번호】	690315-1676329
【우편번호】	704-741

【주소】 대구광역시 달서구 파산동 350번지 삼성한국형아파트 115동
306호

【국적】 KR

【심사청구】 청구

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다.

대리인 김석현 (인)

대리인 황주명 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 54 면 54,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 9 항 397,000 원

【합계】 480,000 원

【감면사유】 중소기업

【감면후 수수료】 240,000 원

【첨부서류】 1.요약서·명세서(도면)_1통 2.중소기업기본법시행령 제2조에 의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 탐침 DNA로서 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자가 기판 상에 고정화된 것을 특징으로 하는 DNA 칩에 관한 것이다. 본 발명에 따른 DNA 칩은 박테리오페이지 또는 페이지미드를 이용하여 제조된 단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용한다는 점에 특징이 있다. 본 발명에 따른 DNA 칩은 질병 관련 유전자 군을 탐색하거나 또는 각 질병들에 대한 다양한 발현 양상(expression profile)을 조사하는데 유용하게 이용될 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

DNA 칩, 단일가닥 환형 분자, 박테리오페이지

【명세서】

【발명의 명칭】

단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩 {DNA chip using a probe DNA with single stranded large circular molecules}

【도면의 간단한 설명】

- <1> 도 1은 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자의 제조 과정을 나타낸 모식도이다.
- <2> 도 2는 본 발명에 따라 제조된 단일가닥 환형 분자들의 전기영동 분석 결과를 나타낸 1% 아가로스 겔 사진이다.
- <3> M: λ -HindIII 사이즈 마커
- <4> 도 3은 본 발명에 따라 제조된 단일가닥 환형 분자와 이중가닥 페이지미드 분자의 용해 온도(T_m)를 측정한 결과를 나타낸 것이다.
- <5> A: CD44 항원 유전자가 삽입된 이중가닥 페이지미드
- <6> B: CD44 항원 유전자가 삽입된 단일가닥 환형 분자
- <7> 도 4는 본 발명에 따른 DNA 칩을 이용하여 간암 조직의 유전자 발현 양상을 분석한 스캐닝 이미지이다. 정상 조직에 비해 상향 조절된 유전자들은 적색으로, 하향조절된 유전자들은 녹색으로, 발현 변화가 없는 유전자들은 황색으로 표시되었다.

<8> 도 5는 본 발명에 따른 DNA 칩을 이용하여 분석된, 간 정상 및 간암 조직간의 유전자 발현 양상에 대한 스캐터 플롯이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<9> 본 발명은 단일가닥 환형 분자(single stranded large circular molecule)를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 탐침 DNA로서 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자가 기판 상에 고정화된 것을 특징으로 하는 DNA 칩에 관한 것이다.

<10> 세포의 생리학적 또는 병리학적 기능 변화는 유전자 발현 양상의 변이(alteration)와 연관성을 갖는다. 예를 들면, 악성 종양은 암 유전자(oncogene)의 과 발현과 암 억제 유전자(tumor suppressor gene)의 발현 감소로 인하여 발달할 수 있다. 따라서, 유전자 발현 변이의 확인은 질병 관련 유전자를 탐색하기 위한 하나의 도구로서 활용되어 왔다. 차별적으로 발현하는 유전자들을 탐색하는 방법으로는 노던 블롯(northern blot)(Alwine *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74:5350-5354, 1977), S1 뉴클레아제 프로텍션 분석(S1 nuclease protection analysis)(Berk *et al.*, *Cell*, 12:721-732, 1977), DD법(differential display

method)(Liang *et al.*, *Science*, 257:967-971, 1992), cDNA 라이브러리의 염기 서열 분석(Adams *et al.*, *Science*, 252:1651-1656, 1991; Okubo *et al.*, *Nature Genet.*, 2:173-179, 1992), SAGE(serial analysis of gene expression)(Velculescu *et al.*, *Science*, 270:484-487, 1995), RDA(representational difference analysis)(Hubank *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 22:5640-5648, 1994; Lisitsyn *et al.*, *Science*, 259:946-951, 1993) 등이 있다. 그러나, 상기 방법들은 한 번의 실험으로 얻을 수 있는 데이터의 양에 한계가 있고, 많은 시간을 요구한다.

<11>

한편, 최근 30억 개의 염기서열을 분석한 인간 게놈 프로젝트가 완료된 후, 생체 내 많은 유전자의 기능을 효율적으로 해석하기 위한 대표적인 기술로서 DNA 칩('DNA 마이크로어레이'라고도 함)이 대두되고 있다. 또한, 지금까지 밝혀진 암이나 기타 질병과 관련된 수백 개의 유전자 돌연변이도 계속 증가되고 있는 추세이기 때문에, DNA 칩의 중요성은 더욱 커지고 있는 실정이다. 급속히 발달한 DNA 칩 기술은 수많은 세포 전사체들의 발현 변이를 일시에 관찰할 수 있도록 해 주었다(Schena *et al.*, *Science*, 270:467-470, 1995; DeRisi *et al.*, *Science*, 278:680-686, 1997; Iyer *et al.*, *Science*, 283:83-87, 1999).

<12>

DNA 칩은 기판 상에 수백 내지 수천 개의 DNA를 정렬 고정화시킨 것으로, 해석하고자 하는 세포에서 추출한 RNA로 조제한 형광 표식 cDNA와 혼성화(hybridization)시켜 각 유전자의 발현 변화를 측정해 준다. DNA 칩의 중요한 용도 중 하나는 다른 두 종류 세포간의 차별적 유전자 발현(differential gene expression)을 분석하는 것이다. 상기 DNA 칩은 기판 상에 고정화되는 탐침

DNA(probe DNA)에 따라 올리고뉴클레오티드 마이크로어레이(oligonucleotide microarray)와 cDNA 마이크로어레이(cDNA microarray)의 두 가지 형태로 나눌 수 있다. 상기 올리고뉴클레오티드 마이크로어레이는 20 내지 25 mer의 올리고뉴클레오티드 또는 펩티드 핵산(peptide nucleic acid; PNA)을 염기 하나씩 합성하여 기판 상에 고정화시킨 것으로서, 질병의 진단 혹은 SNP의 연구 등에 많이 응용되고 있다. 올리고뉴클레오티드 마이크로어레이의 경우, 미리 알고 있는 DNA 염기서열을 합성하여 일일이 붙이게 되므로, 고밀도로 집적할 수 있고 따라서 분석이 정확하다. 그러나, 합성시간과 비용이 많이 드는 단점이 있다. 반면, cDNA 마이크로어레이는 500 내지 5,000bp 크기의 cDNA를 폴리 L-라이신(poly L-lysine), 아민(amine) 또는 알데하이드(aldehyde)가 코팅된 기판 상에 고정화시킨 것으로서, 주로 유전자 발현의 차이(differential gene expression)를 연구하는데 많이 응용된다. 일반적으로 탐침 DNA의 양이 목적 DNA(target DNA)보다 약 10배 이상 유지되어야 유전자 발현을 정확하게 조사할 수 있다. 따라서, 상기 cDNA 마이크로어레이의 기판 상에 고정화되는 cDNA는 대부분 PCR을 통해 증폭하여 사용되고 있다. 그러나, 이 경우 또한 플라스미드 정제, PCR 수행, PCR 산물의 정제 및 단일가닥으로 변성시키는 과정 등 번거로운 과정들을 거쳐야 하며, 또 이러한 과정들은 고비용을 수반한다.

<13> 한편, M13 박테리오페이지(bacteriophages)와 같은 특정 박테리오페이지들은 단일가닥의 환형 게놈을 가지는데, 이것은 주로 돌연변이 연구와 DNA 염기서열 분석에 활용되어 왔다. 또한, 재조합 박테리오페이지의 제작에 사용되는 M13 페이지

미드(M13 phagemid)는 특정 유전자 유래의 센스 서열을 함유하는 단일가닥 환형 게놈 DNA를 대량 생산할 수 있게 유전공학적으로 재조합할 수 있다. 따라서, 본 발명자들은 DNA 칩 제작을 위한 탐침 DNA(센스 DNA)의 생산에 상기 박테리오페이지 또는 페이지미드를 이용하면, 이중가닥 DNA의 분리, 즉 변성(denaturation)의 불필요와 이에 따른 기관에 부착된 탐침 DNA의 안정성 증진, 높은 서열 충실도 (high sequence fidelity), 번거로운 목표 부위 검색(target site search)의 불필요, 화학적 변형(chemical modification)의 불필요, 상보적 핵산 가닥의 부재로 인한 목적 DNA의 높은 결합 가능성(higher binding probability), 그리고 저비용으로 대량 생산을 쉽게 할 수 있는 점 등의 다양한 이점을 살릴 수 있을 것으로 예상하였다. 이에 본 발명자들은 단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 DNA 칩을 개발하였고, 상기 DNA 칩의 유용성을 검증함으로써 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <14> 따라서, 본 발명의 목적은 단일가닥 환형 분자를 탐침 DNA로 이용하는 새로운 형태의 DNA 칩을 제공하는 것이다.
- <15> 본 발명의 다른 목적은 상기 DNA 칩을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- <16> 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 DNA 칩을 포함하는 유전자 발현 분석용 키트(kit)를 제공하는 것이다.

**【발명의 구성】**

- <17> 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 탐침 DNA로서 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자가 기판 상에 고정화된 것을 특징으로 하는 DNA 칩을 제공한다.
- <18> 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 DNA 칩을 제조하는 방법을 제공한다.
- <19> 보다 구체적으로 본 발명은,
- <20> a) 원하는 유전자의 DNA를 페이지미드 또는 박테리오페이지에 삽입하여 재조합 페이지미드 또는 재조합 박테리오페이지를 제조하는 단계;
- <21> b) 상기 재조합 페이지미드 또는 재조합 박테리오페이지를 헬퍼 페이지에 감염시킨 대장균에 도입하거나, 또는 대장균에 도입한 후 헬퍼 페이지를 감염시켜 배양하는 단계;
- <22> c) 형질전환체의 배양액으로부터 단일가닥 환형 분자를 분리 및 정제하는 단계;
- <23> d) 정제된 단일가닥 환형 분자를 기판 상에 고정화시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 DNA 칩의 제조방법을 제공한다.
- <24> 또한, 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 상기 DNA 칩을 포함하는 유전자 발현 분석용 키트를 제공한다.

<25>

본 발명에서 "탐침 DNA"란, DNA 칩의 기판 상에 고정화되는 DNA를 말하는 것으로서, 올리고뉴클레오타이드, cDNA 또는 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자를 포함한다. 또한, 본 발명에서 "목적 DNA"란 해석하고자 하는 세포에서 추출한 RNA로 조제한 형광 표식 cDNA를 말하는 것이다. 상기 목적 DNA는 탐침 DNA의 염기서열과 상보적인 서열을 갖고 있어 이들의 결합 정도로서 유전자의 발현량을 비교 분석할 수 있다.

<26>

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<27>

본 발명은 DNA 칩의 탐침 DNA로서 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자를 이용한다는 점에 특징이 있다. 상기 원하는 유전자의 DNA는 mRNA로부터 RT-PCR 또는 cDNA 라이브러리 구축을 통해 얻을 수도 있고, 본 발명의 실시예에 서와 같이 원하는 유전자의 DNA가 삽입된 클론을 구입하여 이용할 수도 있다. 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자는 박테리오페이지를 이용하여 제조될 수 있다. 박테리오페이지는 단일가닥 환형 게놈 DNA를 갖는 특징이 있다. 박테리오페이지의 DNA 분자는 숙주세포 내에서 이중가닥 DNA 형태의 매개 복제형(intermediate replication form)으로 존재하다가, 바이러스 입자를 둘러싸기 직전에 단일가닥으로 전환된다. 이 전환이 바로 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자를 제조하기 위한 수단이다. 본 발명에 이용될 수 있는 박테리오페이지로는 f1, fd, M13 등을 사용할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

<28>

또한, 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자는 페이지미드를 이용하여 제조될

수 있다. 페이지미드는 박테리오페이지의 복제기원(replication origin)과 플라스미드의 복제 기원이 둘 다 존재하는 벡터로서, 평상시에는 플라스미드 기원으로 복제되나, 야생형 페이지(wild-type phage)에 감염되면 페이지 기원을 사용하여 단일가닥 DNA를 만들어 낸다. 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자가 제조되는 과정도 1에 도시하였다. 본 발명에 사용될 수 있는 페이지미드로는 pBluescript II SK(+/-) 또는 KS(+/-) (Stratagene, USA), pGEM-f(Promega, USA), M13mp, pCR2.1, pGL2, p β gal, pSPORT1 등과 그의 유도체 등을 사용할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다. 따라서, 본 발명에서는 상기 박테리오페이지와 페이지미드가 단일가닥 DNA를 만들어낸다는 특성을 이용하여, 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자를 제조하였으며, 상기 단일가닥 환형 분자를 이용한 DNA 칩의 유용성을 검증하였다.

<29>

본 발명의 일 실시예에서는 탐침 DNA를 제조하기 위해 1,152개의 단일 유전자 DNA가 각각 삽입된 재조합 페이지미드 pSPORT1을 헬퍼 페이지(helper phage)에 감염시킨 대장균에 형질전환하였다. 이 때, 상기 재조합 페이지미드 pSPORT1을 대장균에 도입시킨 후 헬퍼 페이지를 감염시킬 수도 있다. 상기 헬퍼 페이지로는 당 업계에서 통상적으로 사용되는 것이라면 제한없이 사용될 수 있으나, 보다 바람직하게는 M13K07을 사용하는 것이 바람직하다. 이후, 형질전환된 대장균을 배양하여 배양 상등액으로부터 각각 1,152개의 단일 유전자를 포함하는 단일가닥 환형 분자들을 분리 정제하였다. 1% 아가로스 겔 전기영동을 통하여 분리된 단일가닥 환형



분자들의 순도 및 양을 확인하였으며(도 2 참조), 또한 용해온도(T_m) 측정을 통하여 본 발명에 따라 제조된 환형 분자들이 단일가닥임을 확인하였다(도 3 참조).

<30>

본 발명의 다른 실시예에서는 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자를 DNA 칩의 기판 상에 고정화시켜 DNA 칩을 제조하였다. 단일가닥 환형 분자를 고정화시키는 방법으로는 파이조일렉트릭(piezoelectric) 방식을 이용한 마이크로파이펫팅(micropipetting) 법, 핀(pin) 형태의 스폿터(spotter)를 이용한 방법 등을 사용할 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로 본 발명에서는 핀 형태의 스폿터인 마이크로어레이어(microarrayer)를 이용하였다. 상기 DNA 칩의 기판은 아미노-실란(amino-silane), 폴리-L-라이신(poly-L-lysine) 및 알데히드(aldehyde)로 이루어진 군에서 선택되는 하나의 활성기가 코팅된 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 기판은 슬라이드 글래스, 플라스틱, 금속, 실리콘, 나일론 막, 그리고 니트로셀룰로스 막(nitrocellulose membrane)으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로 본 발명에서는 아미노-실란이 코팅된 슬라이드 글래스를 사용하였다.

<31>

본 발명의 실험예에서는 본 발명에 따른 DNA 칩의 유용성을 검증하기 위하여, 상기 DNA 칩을 이용하여 간암조직에서의 유전자 발현 변이를 분석하였다(도 4 및 도 5 참조). 그 결과, 본 발명에서 탐침 DNA로 사용한 1,152개의 유전자 중에서 간암 조직에서 발현이 상향 조절된 29개(약 2.5%)의 유전자를 탐색할 수 있었다(표 2 참조). 상기 29개 유전자 중에서 특히 CD44 항원(CD44 antigen)(Endo K. *et al.*, *J. Hepatology*, 32(1):78-84, 2000), IMP 탈수소화효소(inosine



monophosphate dehydrogenase)(Jackson R.C. *et al.*, *Nature* 256(5515):331-333, 1975), 다중 엔도크린 네오플라시아 I (multiple endocrine neoplasia 1)(Nakajima K. *et. al.* *Intern. Med.* 30(1):20-24, 2000), 그리고 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나아제 2(calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2)(Arizono K. *et. al.* *Life Sci.* 53(12):1031-1037, 1993)는 간암 관련 유전자로 이미 보고된 바 있다. 이와 반대로 간암 조직에서 발현이 하향 조절된 6개(약 0.5%)의 유전자 또한 탐색할 수 있었으며(표 3 참조), 이들 중 특히 피브리노겐-유사 1(fibrinogen-like 1)(Kohno T. *et. al.*, *Jpn. J. Cancer Res.* 91(11):1103-1110, 2000)은 ATL(adult T cell leukemia) 세포에서 하향조절되는 것으로 이미 보고된 바 있다. 이 결과로부터, 본 발명에 따라 제조된 단일가닥 환형 분자가 탐침 DNA로서 유용하게 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 본 발명에 따른 DNA 칩이 차별적 발현을 보이는 유전자를 탐색하는데 유용하게 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

<32> 본 발명의 DNA 칩은 인간 칩(human chip), 마우스 칩(mouse chip) 등과 같은 다양한 동물세포 및 조직이나 식물세포 및 조직, 또는 미생물 등에서 유전자 발현을 대규모로 조사할 수 있다. 또한, 본 발명의 DNA 칩은 특정 생명체 및 그들의 군집에 대해 발생 칩(developmental chip), 암 칩(cancer chip), 세포사멸 칩(apoptosis chip), 암 유발 유전자 및 암 억제 유전자 칩(oncogene and tumor suppressor chip), 세포주기 유전자 칩(cell cycle gene chip), 사이토카인 및 그 수용체 칩(cytokine and cytokine receptor chip), 성장인자 및 그 수용체 칩

(growth factor and growth factor receptor chip), 그리고 신경 칩(neurochip) 등의 다양한 형태로 제공될 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

<33> 한편, 본 발명에 따른 DNA 칩을 이용하여 유전자 발현 변화와 같은 생리학적 반응(physiological response)을 분석할 수 있는데, 이는 DNA 칩의 시료(test sample)에 대한 혼성화 양상(hybridization pattern)에 의해 결정될 수 있다. 상기 시료로는 mRNA, cDNA, 전체 세포 추출물(whole cell extract)을 사용할 수 있다.

<34> 특히, 본 발명의 DNA 칩은 다양한 응용 중 유전자의 차별적 발현 분석에 이용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 칩은 (a)질병조직과 정상조직간, (b)다른 종류의 조직간, (c)발생 단계별, (d)외부 또는 내부 자극에 대한 반응 및 (e)특정물질의 처리에 대한 반응 등에 있어서 유전자들의 차별적 발현을 분석하는데 유용하게 이용될 수 있다. 또한, 본 발명의 칩은 약제 발견(drug discovery) 및 일반 연구(research)를 위한 광범위한 유전자 발현 탐색에도 유용하게 사용될 수 있다. 그리고, 하나의 특정 세포에 대한 특정 활성 물질의 영향을 유전자 발현 수준에서 탐색함으로써 얻은 정보들은 질병 발생, 약제 독성(drug toxicity) 파악, 암 유발성(carcinogenicity) 여부 확인 및 환경 감시(environmental monitoring) 등을 위한 연구에 도움을 줄 것이다.

<35> 본 발명의 또다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 본 발명에 따른 DNA 칩을 포함하는, 유전자 발현 분석용 키트를 제공한다. 본 발명에 따른 키트에는

본 발명의 DNA 칩을 이외에, 필요에 따라, i)목적 DNA(시료)를 생성할 수 있는 프라이머(primers), ii)dNTPs 및 rNTPs(사전 혼합형 또는 분리 공급형), iii)독특한 표식물질로 표식해 놓은 dNTPs 및 rNTPs, iv)형광 염색제의 화학적 유도체와 같은 표식시약(post synthesis labeling agent), v)역전사 효소, DNA 중합효소와 같은 효소, vi)혼성화 완충용액, 세척 완충용액등과 같은 완충용액, vii)스핀 컬럼(spin column)과 같은 표식 탐침 정제용 시약 및 기구, 그리고 viii)스트렙타비딘-알칼리 탈인산화효소 접합물질(streptavidine-alkaline phosphatase conjugate), 화학형광 물질(chemifluorescent) 또는 화학발광물질(chemiiluminescent)의 기질 등의 다양한 시약이 포함될 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다.

<36> 본 발명에 따른 DNA 칩은 탐침 DNA 면에 있어서 다음과 같은 장점이 있다.

<37> 첫째, 본 발명에 따른 탐침 DNA는 박테리아 세포 내에 존재하는 DNA 중합효소에 의해 복제되기 때문에, 높은 복제 충실도(replication fidelity)를 갖는다. 이는 탐침 DNA의 복제를 수행하는, 박테리아의 DNA 중합효소 자체가 합성 교정 능력(proof reading capability)을 갖고 있는 것에 기인하는 것이다. 이로 인해 본 발명에 따른 탐침 DNA는 PCR을 이용하여 증폭된 DNA보다 정확한 염기서열을 갖는다.

<38> 둘째, 본 발명에 따른 탐침 DNA는 프라이머 서열의 설정 및 합성, PCR 수행 조건 확립을 필요로 하는 PCR을 이용하지 않기 때문에, 보다 용이하게 제조될 수 있다. 즉, 프라이머 제작, PCR 수행 및 PCR 산물의 정제 등 번거로운 과정들을 거



치지 않는다. 또한, 상기 과정들로 인한 고비용을 수반하지 않는다.

<39> 셋째, PCR로 증폭한 cDNA를 탐침 DNA로 사용하는 경우에는 목적 DNA와의 혼성화를 위해 변성(denaturation)을 미리 해주어야 하는 반면, 본 발명에 따른 탐침 DNA는 박테리오페이지나 페이지미드에 의해 단일가닥으로 제조되기 때문에, 변성과 정, 예컨대 고열 또는 변성 촉진 화학제 처리 등을 필요로 하지 않는다. 따라서, 기판에 부착된 탐침 DNA의 안정성을 증진시킬 수 있다.

<40> 넷째, 본 발명에 따른 탐침 DNA의 제조는 벡터(박테리오페이지 또는 페이지미드)를 기본적으로 이용하므로, 수천 또는 수만 개의 독립적인 클론들로 이루어진 cDNA 라이브러리를 신속하게 제작할 수 있다. 따라서, 질병과 관계된 비정상 세포 또는 조직으로부터 cDNA 라이브러리를 구축한 후, 단일가닥 환형 분자를 대량 생산하여 DNA 칩을 제작함으로써, 이를 이용하여 질병 관련 유전자 군을 효율적으로 탐색할 수 있다. 또한, 본 발명의 실시예와 같이, 사람 또는 다른 유기체의 유전자들로 구성된 단일 유전자 라이브러리(unigene library)를 이용하여 각 질병들에 대한 다양한 발현 양상을 조사할 수도 있다.

<41> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

<42> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<43> <실시예 1>

<44> 단일가닥 환형 분자의 제조

<45> 미국 인사이트(Incyte, USA)사의 인간 단일유전자 클론 셋트(제품명: Human UniGem version 2.0, 제품코드: ICGEM-5113)에서 페이지미드 벡터인 pSPORT1에 삽입되어 있는 1,152개의 클론만을 발채하였다(표 1 참조). 1,152개의 단일유전자를 각각 포함하는 재조합 pSPORT1로 대장균 XL-10 GOLD(Stratagene)를 형질전환하였다. 이때, 상기 대장균으로는 헬퍼 페이지 M13K07(NEB nucleic acid, USA)을 미리 감염시킨 것을 사용하였다. 각 형질전환체를 암피실린(최종농도 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 테트라사이클린(최종농도 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 포함된 2 \times YT 액체배지(tryptone 16 g, yeast extract 10 g, NaCl 10 g/1000 ml)를 1.4ml씩 미리 분주해 놓은 96 웰 플레이트의 각 웰에 접종하였다. 이후, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 250rpm으로 14시간 동안 진탕배양하였다. 상기 배양은 1회 정제로 최대량의 환형 센스 분자를 얻기 위해 3배수(triplicate)로 하였다. 각 배양 상등액 1ml을 20% 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol)과 혼합한 다음, DNA 분리 키트(QIAprep 96 M13 Kit, QIAGEN, German)를 이용하여 각 유전자가 삽입된 단일가닥 환형 분자들을 분리하였다. 이후, QIAVAC Vacuum Manifold(Qiagen, German)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 상기 단일가닥 환형 분자들을 순수 정제하였다.

<46> 이후, 1% 아가로스 겔 전기영동을 수행하여 정제된 단일가닥 환형 분자들의 양 및 순도를 확인하였다. 1,152개의 단일가닥 환형 분자 중에서 96개의 단일가닥 환형 분자에 대한 전기영동 사진을 도 2에 도시하였다.

표 1: 본 발명에서 사용한 1,152개의 단일 유전자 목록

일련번호	등록번호 (Genbank)	유전자 명
1	NM_004233	CD83 antigen (activated B lymphocytes, immunoglobulin superfamily)
2	Z70660	protein tyrosine phosphatase, receptor type, K
3	Y16280	endothelin type b receptor-like protein 2
4	AA151810	homeo box gene expressed in ES cells; Rathke pouch homeo box
5	NM_000098	carnitine palmitoyltransferase II
6	L17325	pre-T/NK cell associated protein
7	AI001914	Niemann-Pick disease, type C1
8	L35263	mitogen-activated protein kinase 14
9	L08488	inositol polyphosphate-1-phosphatase
10	AF055029	Homo sapiens clone 24711 mRNA sequence
11	AI621207	ribosomal protein S16
12	NM_001907	chymotrypsin-like protease
13	AF053074	CDC45 (cell division cycle 45, S.cerevisiae, homolog)-like
14	X51521	villin 2 (ezrin)
15	D13641	KIAA0016 gene product
16	NM_001046	solute carrier family 12 (sodium/potassium/chloride transporters), member 2
17	AI036211	lumican
18	D14811	Human mRNA for KIAA0110 gene, complete cds
19	AI337897	chaperonin containing TCP1, subunit 4 (delta)
20	X62744	major histocompatibility complex, class II, DM alpha
21	AA782463	Homo sapiens (clone CC6) NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit mRNA, 3' end cds
22	NM_004595	spermine synthase

23	AA069318	carboxy terminal LIM domain protein 1
24	U55936	synaptosomal-associated protein, 23kD
25	AI042325	iduronate 2-sulfatase (Hunter syndrome)
26	AM161286	KIAA0009, gene product
27	224784	amphiphysin-like
28	AF022109	CDC6 (cell division cycle 6, <i>S. cerevisiae</i>) homolog
29	NM_001483	glioblastoma amplified sequence
30	L22009	cell division cycle 27
31	AA278439	prefoldin 1
32	AI040564	SREBP CLEAVAGE-ACTIVATING PROTEIN
33	AI918095	transmembrane 4 superfamily member 3
34	Y15723	guanylate cyclase 1, soluble, alpha 3
35	NM_001006	ribosomal protein S3A
36	D25328	phosphofructokinase, platelet
37	D86981	2 amyloid beta precursor protein (cytoplasmic tail)-binding protein
38	D88687	thioredoxin reductase 1
39	X96753	chondroitin sulfate proteoglycan 4 (melanoma-associated)
40	D86964	dedicator of cyto-kinesis 2
41	AA410913	KIAA0117, protein
42	M37780	platelet/endothelial cell adhesion molecule (CD31 antigen)
43	U15655	Human ets domain protein ERF, mRNA, complete cds
44	L41351	protease, serine, 8 (prostasin)
45	AF028788	unc119 (C.elegans) homolog
46	L38935	Homo sapiens GT212 mRNA
47	S54005	Thymosin, beta 10
48	U63970	canalicular multispecific organic anion transporter
49	M80776	adrenergic, beta, receptor kinase 1

50	NM_001062	transcobalamin I (vitamin B12 binding protein, R binder family)
51	U78575	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, type I, alpha
52	X66362	PCTAIRE protein kinase 3
53	AL050262	toll-like receptor 1
54	L42374	protein phosphatase 2, regulatory subunit B (B56), beta isoform
55	AC004976	glycyl-tRNA synthetase
56	D50371	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit e
57	NM_006571	novel RGD-containing protein
58	AI085165	coagulation factor III (thromboplastin, tissue factor)
59	AI754765	ribosomal protein L28
60	AF009314	Homo sapiens clone TUA8 Cri-du-chat region mRNA
61	AI022312	calcium channel, voltage-dependent, alpha 1I subunit
62	NM_002425	matrix metalloproteinase 10 (stromelysin 2)
63	NM_001115	adenylate cyclase 8 (brain)
64	X12830	interleukin 6 receptor
65	U33267	glycine receptor, beta
66	U67733	phosphodiesterase 2A, cGMP-stimulated
67	AF062537	culin 3
68	AI934325	non-specific cross reacting antigen
69	AI421088	cytochrome c oxidase subunit VIa polypeptide 1
70	NM_001157	annexin A11
71	AF029750	TAP binding protein (tapasin)
72	NM_003400	exportin 1 (CRM1, yeast, homolog)
73	AI339518	Human septaplerin reductase mRNA, complete cds
74	AF055007	Homo sapiens clone 24707 mRNA sequence
75	NM_000926	progesterone receptor
76	L04270	lymphotoxin beta receptor (TNFR superfamily, member 3)

77	D43747	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1D subunit
78	AF000982	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 3
79	NM_005827	UDP-galactose transporter related
80	AA868701	diazepam binding inhibitor (GABA receptor modulator, acyl-Coenzyme A binding protein)
81	M61831	S-adenosylhomocysteine hydrolase
82	U27460	UDP-glucose pyrophosphorylase 2
83	AF038203	Homo sapiens clone 23596 mRNA sequence
84	M27492	interleukin 1 receptor, type I
85	U48736	serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
86	NM_000237	lipoprotein lipase
87	AF068221	ATPase, Ca++ transporting, ubiquitous
88	Z31696	accessory proteins BAP3/BAP29
89	AW362032	hypothetical protein
90	NM_000129	coagulation factor XIII, A1 polypeptide
91	D42041	KIAA0088 protein
92	M22960	protective protein for beta-galactosidase (galactosialidosis)
93	NM_000123	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 5 (xeroderma pigmentosum, complementation group G (Cockayne syndrome))
94	AW327285	transcription elongation factor B (SII), polypeptide 2 (18kD, elongin B)
95	AW249201	chaperonin containing TCP1, subunit 3 (gamma)
96	AW071776	KIAA0561 protein
97	X96719	C-type (calcium dependent, carbohydrate-recognition domain) lectin, superfamily member 2 (activation-induced)
98	M33772	troponin C2, fast
99	NM_001839	calponin 3, acidic
100	U07681	KIAA0631 protein

101	D86550	dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A
102	NM_006451	polyadenylate binding protein-interacting protein 1
103	NM_002670	plastin 1 (I isoform)
104	U11087	vasoactive intestinal peptide receptor 1
105	AC003083	Homo sapiens BAC clone RG060N22 from 7q21
106	A1652873	KIAA0781 protein
107	U69567	KIAA0896 protein
108	NM_000056	branched chain keto acid dehydrogenase E1, beta polypeptide (maple syrup urine disease)
109	A1142926	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 7 (Mov34 homolog)
110	AF131850	etoposide-induced mRNA
111	NM_004178	TAR (HIV) RNA-binding protein 2
112	X80695	oxidase (cytochrome c) assembly 1-like
113	NM_002712	protein phosphatase 1, regulatory subunit 7
114	AJ224819	candidate tumor suppressor involved in B-CLL
115	Y12735	dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3
116	AB002305	KIAA0307 gene product
117	D83243	nuclear protein, ataxia-telangiectasia locus
118	A1028346	KIAA0742 protein
119	A1961190	KIAA0690 protein
120	NM_003002	succinate dehydrogenase complex, subunit D, integral membrane protein
121	A1144165	phosphoribosylglycinamide synthetase, formyltransferase, phosphoribosylaminimidazole synthetase
122	NM_001698	AU RNA-binding protein/enoyl-Coenzyme A hydratase
123	Z22948	v-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells

		3 (p65)
124	AI635077	structure specific recognition protein 1
125	AF038188	Homo sapiens clone 23940 mRNA sequence
126	D87450	KIAA0261 protein
127	AB011101	ubiquitin specific protease 15
128	NM_001999	fibrillin 2 (congenital contractual arachnodactyly)
129	NM_002398	Meis1 (mouse) homolog
130	AI564479	untitled
131	AA808202	KIAA0807 protein
132	NM_001635	amphiphysin (Stiff-Mann syndrome with breast cancer 128KD autoantigen)
133	AF029669	RAD51 (S. cerevisiae) homolog C
134	M69054	insulin-like growth factor binding protein 6
135	NM_005842	sprouty (Drosophila) homolog 2
136	U37436	5-aminimidazole-4-carboxamide formyltransferase/IMP cyclohydrolase ribonucleotide
137	M94046	MYC-associated zinc finger protein (purine-binding transcription factor)
138	D87437	KIAA0250 gene product
139	NM_003631	Incye-EST
140	S62539	insulin receptor substrate 1
141	U19180	B melanoma antigen
142	AI423978	sialyltransferase 9 (CMP-NeuAc:lactosylceramide alpha-2,3-sialyltransferase; GM3 synthase)
143	AW264066	KIAA0840 protein
144	L35594	phosphodiesterase 1/nucleotide pyrophosphatase 2 (autotaxin)
145	NM_004730	eukaryotic translation termination factor 1
146	AI085335	Jun activation domain binding protein

147	NM_005787	Not56 (D. melanogaster)-like protein
148	D1143	plasmalogen activator, urokinase
149	NM_002764	phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 1
150	AB01141	KIA0569 gene product
151	AI095591	oxytocin receptor
152	NM_006310	puromycin-sensitive aminopeptidase
153	U69108	TNF receptor-associated factor 5
154	NM_006113	ESTs, highly similar to VAV-3 protein [H.sapiens]
155		
156	U00686	G protein-coupled receptor kinase 6
157	AA468735	uridine monophosphate kinase
158	U02031	sterol regulatory element binding transcription factor 2
159	AB000220	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3C
160	U56637	capping protein (actin filament) muscle Z-line, alpha 1
161	D50922	Kelch-like ECH-associated protein 1
162	AB002370	KIAA0372 gene product
163	S52784	cystathionase (cystathionine gamma-lyase)
164	Y13758	transient receptor potential channel 3
165	NM_005975	protein tyrosine kinase 6
166	AL031282	cell division cycle 2-like 1 (PITSURE proteins)
167	AW243690	retinitis pigmentosa 2 (X-linked recessive)
168	NM_001539	heat shock protein, DNAJ-like 2
169	U05875	interferon gamma receptor 2 (interferon gamma transducer 1)
170	AI311471	von Hippel-Lindau binding protein 1
171	NM_001183	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump), subunit 1
172	U21090	polymerase (DNA directed), delta 2, regulatory subunit (50kD)
173	AF030409	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), isoform 6

174	X95384	translational inhibitor protein p14.5
175	AC004537	Homo sapiens PAC clone D0872F07 from 7q31
176	NM_006378	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4D
177	U36500	nuclear body protein Sp140
178	AF083385	splicing factor 30, survival of motor neuron-related
179	AI093170	KIAA0663 gene product
180	AW026647	thyroid hormone receptor interactor 7
181	D38529	dentatorubral-pallidoluysian atrophy (atrophin-1)
182	D43950	chaperonin containing TCP1, subunit 5 (epsilon)
183	AF017257	v-ets avian erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 2
184	AL046477	pre-mRNA splicing factor SF3a (120 kDa subunit), similar to S. cerevisiae PRP21
185	NM_001527	histone deacetylase 2
186	D83032	Homo sapiens mRNA for nuclear protein, NP220, complete cds
187	NM_003085	synuclein, beta
188	H13563	paternally expressed gene 3
189	AA743346	E2F transcription factor 5, p130-binding
190	AI332708	SCO (cytochrome oxidase deficient, yeast) homolog 1
191	AA581821	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZP56402082 (from clone DKFZP56402082)
192	AB020686	KIAA0879 protein
193	AI884353	mitochondrial translational release factor 1
194	AA903127	Homo sapiens clone 23930 mRNA sequence
195	AA889346	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 3
196	X64229	DEK gene
197	AB014531	KIAA0631 protein
198	AB018255	KIAA0712 gene product
199	X98494	M phase phosphoprotein 10 (U3 small nucleolar ribonucleoprotein)
200	AI288887	ESTs

201	AI825292	ryanodine receptor 3
202	AF065389	tetraspan 5
203	AB028966	KIAA1043 protein
204	AI014627	Fukuyama type congenital muscular dystrophy
205	AA393569	scrapie responsive protein 1
206	AB022718	decidual protein induced by progesterone
207	N25685	Protein inhibitor of activated STAT X
208	AA805913	LIM and SH3 protein 1
209	AI590320	ESTs
210	D25418	prostaglandin I2 (prostaglandin) receptor (IP)
211	NM_004073	cytokine-inducible kinase
212	AF018284	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 1
213	NM_006334	neuroblastoma (nerve tissue) protein
214	AB017430	Homo sapiens mRNA for kinesin-like DNA binding protein, complete cds
215	AI035296	vesicle-associated membrane protein 4
216	AI186024	KIAA0830 protein
217	AA952981	Homo sapiens clone 24411 mRNA sequence
218	AA947445	G protein-coupled receptor 56
219	AI283033	v-rat simian leukemia viral oncogene homolog A (ras related)
220	AI133490	fibulin 5
221	AF052109	Homo sapiens clone 23927 mRNA sequence
222	NM_002921	retinal G protein coupled receptor
223	AB018693	neurogenic differentiation 1
224	AB007887	KIAA0427 gene product
225	AI683938	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5
226	U40771	adenosine A2a receptor
227		Incye EST

228	AB011542	EGF-like-domain, multiple 5
229	AA971779	TBP-interacting protein
230	NM_001711	biglycan
231	AM078590	KIAA0782 protein
232	AF070529	Homo sapiens clone 24525 mRNA sequence
233	AI498125	Human transcription unit PVT gene, exons I-III
234	AA748850	ESTs
235	U62434	cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 5
236	U20350	chemokine (C-X3-C) receptor 1
237	AF052181	Homo sapiens clone 24790 mRNA sequence
238	AB007940	KIAA0471 gene product
239	AB015020	BALL-associated protein 2
240	AI394645	fibulin 4
241	AB020708	histone deacetylase 6
242	AI198676	KIAA0799 protein
243	AI672998	Homo sapiens clone 614 unknown mRNA, complete sequence
244	U96114	Nedd-4-like ubiquitin-protein ligase
245	AI041143	Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 1
246	AI051566	ESTs, weakly similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY SQ WARNING ENTRY [H.sapiens]
247	L20815	corneodesmosin
248	U28926	chimerin (chimaerin) 2
249	AA953216	ESTs
250	NM_004337	chromosome 8 open reading frame 1
251	AI369050	KIAA0661 gene product
252	AI634647	Homo sapiens HRIHFB2157 mRNA, partial cds
253	AA830963	Homo sapiens clone 24889 mRNA sequence
254	AL050096	RNA helicase-related protein

255	AW051032	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1D
256	AA219230	EST, Moderately similar to 1111 ALU CLASS A WARNING ENTRY 1111 [H.sapiens]
257	A1927629	ESTs
258	AF055006	similar to S. cerevisiae Sec6p and R. norvegicus rsec6
259	N59157	ESTs
260	D50915	KIAA0125 gene product
261	AA062979	Homo sapiens clone 23632 mRNA sequence
262	C06062	carcinoembryonic antigen gene family member 2
263	AA991890	profilin 2
264	AA307460	H2A histone family, member Y
265	A1452459	activator of S phase kinase
266	N25427	ESTs, Weakly similar to unknown orf, len: 393, CAT: 0.13 [S.cerevisiae]
267	M12849	heparin cofactor II
268	U94855	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 5 (epsilon, 47kd)
269	AA903772	katamin p60 (ATPase-containing) subunit A 1
270	AA487503	ESTs
271	A1753668	KIAA0473 gene product
272	AW085283	zinc finger protein 217
273	A1439625	KIAA0618 gene product
274	AB007927	KIAA0458 gene product
275	A1860320	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp564C2163 (from clone DKFZp564C2163)
276	X16282	Human mRNA for zinc finger protein (clone 647)
277	U75329	transmembrane protease, serine 2
278	M57730	ephrin-A1
279	NM_006159	hel (chicken)-like 2
280	U78310	pescadillo (zebrafish) homolog 1, containing BRCT domain

281	NM_004481	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide acetyl-galactosaminyltransferase 2 (GalNAc-T2)	N-
282	AW409935	ESTs, highly similar to AUTOANTIGEN NGP-1 [H.sapiens]	
283	AB015202	hippocalcin	
284	M72709	splicing factor, arginine/serine-rich 1 (splicing factor 2, alternate splicing factor)	
285	D63477	KIAA0143 protein	
286	AI884910	Homo sapiens mRNA for palmitoyl protein thioesterase 2	
287	AI628256	peroxisomal acyl-CoA thioesterase	
288	AL035422	deafness, X-linked 1, progressive	
289	AI138289	methyl-CpG binding domain protein 2	
290	AI870244	carbohydrate (chondroitin 6/keratan) sulfotransferase 2	
291	AI688619	small inducible cytokine A4 (homologous to mouse Mip-1b)	
292	NM_004341	carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase, and dihydroorotase	
293		Incye EST	
294	AF070551	Homo sapiens clone 24515 mRNA sequence	
295	M92301	calcium channel, voltage-dependent, beta 1 subunit	
296	J02843	cytochrome P450, subfamily IIE (ethanol-inducible)	
297	Z83845	transforming growth factor beta-activated kinase-binding protein 1	
298	X53800	GRO3 oncogene	
299	AB020723	KIAA0916 protein	
300	AL120395	interferon, gamma-inducible protein 30	
301	AA203148	carboxypeptidase N, polypeptide 2, 83kD	
302	T24026	quinoid dihydropteridine reductase	
303		Incye EST	
304	AI962556	Human skeletal muscle 1.3 kb mRNA for tropomyosin	
305	AF006265	estrogen receptor-binding fragment-associated gene 9	

306		transcription elongation factor A (SII), 1
307	X66733	CD4 antigen (homing function and Indian blood group system)
308	Z37987	glypican 3
309	NM_003195	Homo sapiens mRNA for transcription elongation factor S-II, hs-II-TI, complete cds
310	L41816	calcium/calmodulin-dependent protein kinase I
311	U42412	protein kinase, AMP-activated, gamma 1 non-catalytic subunit
312	AI857816	RAE1 (RNA export 1, S.pombe) homolog
313	NM_003161	ribosomal protein S6 kinase, 70KD, polypeptide 1
314	Y13710	small, inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys), member 18, pulmonary and activation-regulated
315	Z50022	chromosome 21 open reading frame 1
316	AW338844	Homo sapiens clone 24538 mRNA sequence
317	U79265	Human clone 23614 mRNA sequence
318	AW160362	actin related protein 2/3 complex, subunit 3 (21 KD)
319	AI880007	ATPase, H+ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump) 31KD
320	U50929	betaine-homocysteine methyltransferase
321	NM_005077	transducin-like enhancer of split 1, homolog of Drosophila E(spl)
322	NM_005423	trefoil factor 2 (spasmodic protein 1)
323	NM_006659	gamma-tubulin complex protein 2
324	AI926322	ESTs
325	AI653477	KIAA0076 gene product
326	AF034091	nuclear localization signal deleted in velocardiofacial syndrome
327	S65738	destin (actin depolymerizing factor)
328	Z23064	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G
329	M16653	Human pancreatic elastase IIB mRNA, complete cds
330	D30037	Human mRNA for phosphatidylinositol transfer protein (PI-TPbeta), complete cds
331	U56145	lymphocyte antigen 6 complex, locus E

332	NM_005904	MAD (mothers against decapentaplegic, Drosophila) homolog 7
333	AI110267	osteoglycin (osteoinductive factor)
334	AM410692	membrane protein, palmitoylated 2 (MAGUK p55 subfamily member 2)
335	M34064	cadherin 2, N-cadherin (neuronal)
336	AI679881	thrombospondin 3
337	M34064	cadherin 2, N-cadherin (neuronal)
338	AI279608	hypothetical protein
339	X99135	collagen, type VI, alpha 1
340	NM_003051	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 1
341	AI471525	YY1 transcription factor
342	AA101974	dCMP deaminase
343	AA287397	prefoldin 5
344	H00568	pericentriolar material 1
345	AI360435	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 13
346	M77144	hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 2
347	D55716	minichromosome maintenance deficient (S. cerevisiae) 7
348	AB006967	STAR induced STAR inhibitor 3
349	AI341643	nucleophosmin/nucleoplasm, 3
350	L78833	membrane protein of cholinergic synaptic vesicles
351	M88108	GAP-associated tyrosine phosphoprotein p62 (Sam68)
352	M83822	cell division cycle 4-like
353	M33647	retinoblastoma 1 (including osteosarcoma)
354	AI263853	immediate early protein
355	NM_002083	glutathione peroxidase 2 (gastrointestinal)
356	AF073308	deafness, autosomal dominant 5
357	AF098865	squalene epoxidase
358	AA604143	ESTs

359	D87459	WAS protein family, member 1
360	AI214199	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1
361	AB014554	protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide (PTPRF), interacting protein (liprin), alpha 3
362	NM_006152	lymphoid-restricted membrane protein
363	W25580	iduronidase, alpha-L-
364	L11015	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)
365	L14595	solute carrier family 1 (glutamate/neutral amino acid transporter), member 4
366	AL110208	WD repeat domain 1
367	L43577	Human clone 191B7 placenta expressed mRNA from chromosome X
368	AA150027	ESTs
369	AA488190	Human EST clone 25267 mariner transposon Hsmar1 sequence
370	AI017905	kinesin family member C3
371	AW027139	ribosomal protein S2
372	K02882	Human germline Igd chain gene, C-region, C-delta-1 domain
373	AB006537	Homo sapiens mRNA for interleukin 1 receptor accessory protein, complete cds
374	AA609823	Homo sapiens chromosome 19, cosmid R30783
375	AL040708	ariadne homolog
376	AA811130	CASP2 and RIPK1 domain containing adaptor with death domain
377	AA593632	S100 calcium-binding protein A2
378	X96998	Spi-B transcription factor (Spi-1/PU.1 related)
379	NM_002903	recoverin
380	AI659972	Homo sapiens PAC clone DJ1159004 from 7p21-p22
381	AI743260	mannosidase, alpha, class 1A, member 1
382	D45906	LIM domain kinase 2
383	NM_003567	breast cancer anti-estrogen resistance 3
384	AL008583	dynein, axonemal, light polypeptide 4

385	AW026853	ESTs
386	AI829016	CD59, antigen p18-20 (antigen identified by monoclonal antibodies 16.3A5, EJ16, EJ30, EJ32 and G344)
387	AF070644	Homo. sapiens clone 24742 mRNA sequence
388	U29195	neuronal pentraxin II
389	NM_004710	synaptogyrin 2
390	D63877	KIAA0157 protein
391	AI379767	purinergic receptor (family A group 5)
392	W73191	thioredoxin-like
393	AA372520	Homo. sapiens clone 24781 mRNA sequence
394	NM_003925	methyl-CpG binding domain protein 4
395	U89335	Notch (Drosophila) homolog 4
396	AA308503	ribosomal protein L21
397	AI151190	S100 calcium-binding protein P
398	AI858402	short-chain dehydrogenase/reductase 1
399	L07077	enoyl-Coenzyme A, hydratase/3-hydroxyacyl Coenzyme A dehydrogenase
400	U33635	PTK7 protein tyrosine kinase 7
401	X96667	sialyltransferase 4B (beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase)
402	U58514	chitinase 3-like 2
403	AI298201	Homo. sapiens clone 24804 mRNA sequence
404	AB014604	Homo. sapiens mRNA for KIAA0704 protein, partial cds
405	AL037120	peptidase D
406	AB014551	guanine nucleotide regulatory factor
407		Incye EST
408	AI963477	lysyl oxidase-like 1
409	AI554347	calcium/calmodulin-dependent protein kinase I
410	AW250789	eukaryotic translation initiation factor 4A, isoform 1

411	AW024784	zinc metalloproteinase, STE24 (yeast, homolog)
412	AI143868	ESTs
413	M25665	neutrophil cytosolic factor 1 (47kD, chronic granulomatous disease, autosomal 1)
414	AI224043	deoxycytidine kinase
415	AI189375	matrix metalloproteinase 11 (stromelysin 3)
416	AI952550	MADS box transcription enhancer factor 2, polypeptide A (myocyte enhancer factor 2A)
417	NM_004926	butyrate response factor 1 (EGF-response factor 1)
418	AW249532	MUFI protein
419	X81198	archain 1
420	AW134847	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B
421	AI075188	Homo sapiens clone 24473 mRNA sequence
422	U63090	sialyltransferase 4B (beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase)
423	AA485993	tafazzin (cardiomyopathy, dilated 3A (X-linked); endocardial fibroelastosis 2; Barth syndrome)
424	NM_001294	clef1 lip and palate associated transmembrane protein 1
425	AI568351	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, ATPase, 5
426	U64520	vesicle-associated membrane protein 3 (cellubrevin)
427	AI080069	KIAA0590 gene product
428		cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase
429	Z82215	myosin, heavy polypeptide 9, non-muscle
430	AB000712	claudin 4
431	AI139736	ems1 sequence (mammary tumor and squamous cell carcinoma-associated (p80/85 src substrate)
432	AF035154	regulator of G-protein signalling 11
433	AI278455	activated leucocyte cell adhesion molecule

434	X06323	ribosomal protein, mitochondrial, L3
435	NM_001706	B-cell CLL/Lymphoma 6 (zinc finger protein 51)
436	NM_004037	Human AMP deaminase isoform L (AMPD2) mRNA, exons 6-18, partial cds
437	AI284981	isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble
438	AA505399	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, C-4 to C-12 straight chain
439	AA613978	complement component 4A
440	NM_006369	MUFI protein
441	AA574200	absent in melanoma 1
442	NM_003751	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 9 (eta, 116kD)
443	M12530	transferrin
444	AL040187	Mad4 homolog
445		Incye EST
446	AI088066	proteasome inhibitor
447	AI609766	ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)
448	AB014570	KIAA0670 protein
449	AI565092	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 1
450	AF089868	melanoma adhesion molecule
451	AI760859	Ras homolog enriched in brain 2
452	NM_004309	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha
453	X59798	cyclin D1 (PRAD1: parathyroid adenomatosis 1)
454		Incye EST
455	D42039	KIAA0081 protein
456	AA663562	kinesin family member 3A
457	J05272	IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 1
458	AL031846	chromobox homolog 7
459	AI885768	similar to C. elegans hypothetical 55.2 kD protein F16A11.2

460	AW246142	DiGeorge syndrome critical region gene DGS1
461	U58522	huntingtin-interacting protein 2
462	NM_006475	osteoblast specific factor 2 (fasciclin I-like)
463	AA448531	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1; Sperm associated antigen 2
464	AI674882	human growth factor-regulated tyrosine kinase substrate
465	U07139	calcium channel, voltage-dependent, beta 3 subunit
466	N34040	STE20-like kinase 3
467	AI123685	Homo sapiens clone 24636 mRNA sequence
468	AI885381	Homo sapiens chromosome 19, cosmid R32611
469	AI119876	KIAA0838 protein
470	AA678987	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (double-strand-break rejoining; Ku autoantigen, 80kD)
471	AI638098	transcription factor AP-2 gamma (activating enhancer-binding protein 2 gamma)
472	U59808	small inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys), member 13
473	NM_005892	chromosome 17 open reading frame 1B
474	AB018290	KIAA0747 protein
475	AI034374	Homo sapiens clone 23904 mRNA sequence
476	AI037844	core promoter element binding protein
477	U79528	sigma receptor (SR31747 binding protein 1)
478	AA515766	four and a half LIM domains 2
479	AI051182	proprotein convertase subtilisin/kexin type 7
480	AW157846	neuronatin
481	AI278632	cyclic AMP phosphoprotein, 19 kD
482	M69023	tetraspian 3
483	AI694342	Homo sapiens clone 23790 unknown protein mRNA, complete cds
484	U19143	G antigen 2
485	X98507	myosin 1B

486	AI921484	growth factor receptor-bound protein 7
487	AI638597	culin 4A
488	NM_005380	neuroblastoma candidate region, suppression of tumorigenicity 1
489	AW086431	polymerase (RNA) II (DNA-directed) polypeptide E (25kD)
490	AL047002	tetraspan 3
491	AI344749	KIAA0143 protein
492	U70370	paired-like homeodomain transcription factor 1
493	AI138956	gap junction protein, beta 1, 32kD (connexin 32, Charcot-Marie-Tooth neuropathy, X-linked)
494	AW007704	ecotropic viral integration site 2B
495	AW104512	protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase
496	AI860222	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; citrate transporter), member 1
497	AF070641	Homo sapiens clone 24421 mRNA sequence
498	AA576761	thyroid autoantigen 70kD (Ku antigen)
499	AI924060	splicing factor, arginine/serine-rich 1 (splicing factor 2, alternate splicing factor)
500	J04208	IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 2
501	AI285101	minichromosome maintenance deficient (S. cerevisiae) 7
502	AI452677	ubiquinol-cytochrome c reductase core protein I
503	AL040438	Novel human gene mapping to chromosome 1
504	AI760794	cyclin C
505	S69232	electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase
506	AF030233	catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1
507	AW250380	ribosomal protein, mitochondrial, L12
508	N92498	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp564H2416 (from clone DKFZp564H2416)
509	T28155	interferon-stimulated transcription factor 3, gamma (48kD)
510	AI127875	bladder cancer related protein (10kD)
511	W37407	butyrate response factor 2 (EGF-response factor 2)

512	AJ005865	Homo sapiens mRNA for putative Sqv-8-like protein, partial
513	AA150279	dual specificity phosphatase 11 (RNA/RNP complex 1-interacting)
514	AI874200	KIAA0645 gene product
515	AC005053	Homo sapiens PAC clone D11121E10 from 7q21.1-q2
516	AB014606	KIAA0706 gene product
517	AA890533	aryl hydrocarbon receptor
518	AA428051	angiotensin, ribonuclease, RNase A family, 5
519	D80004	KIAA0182 protein
520	AA955003	Human chromosome 3p21.1 gene sequence
521	AL049798	dermatopontin
522	NM_002407	mammaglobin 2
523	AB014610	KIAA0710 gene product
524	AI026833	calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2, beta
525	N62961	KIAA0656 gene product
526	AA989377	Homo sapiens DAP-kinase related protein 1 mRNA, complete cds
527	Z23022	cyclin D1 (PRAD1: parathyroid adenomatosis 1)
528	AB007914	KIAA0445 gene product
529	AB002384	KIAA0386 gene product
530	Y12338	multiple endocrine neoplasia 1
531	AI097512	chitinase 1
532	AA522918	promyelocytic leukemia
533	AA573434	Kruppel-like factor 4 (gut)
534	NM_001170	aquaporin 7
535	U83857	apoptosis inhibitor 5
536	AB002373	KIAA0375 gene product
537	NM_002993	small inducible cytokine subfamily B (Cys-X-Cys), member 6 (granulocyte chemotactic protein 2)
538	AW015090	protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide (PTPRF), interacting protein (liprin), alpha 1

539	NM_005751	A kinase (PKA) anchor protein 9
540	D87440	KIAA0252 protein
541	AW274267	reticulum 1
542	AI660858	chromosome 11 open reading frame 13
543	AW339488	Homo sapiens clone 24483 unknown mRNA, partial cds
544	AL040116	lymphocyte adaptor protein
545	AJ000519	ubiquitin-conjugating enzyme E2L 3
546	AB020704	KIAA0897 protein
547	NM_001268	chromosome condensation 1-like
548	AI802953	protein arginine N-methyltransferase 3(hnRNP methyltransferase S. cerevisiae)-like 3
549	AA614141	lung type-I cell membrane-associated glycoprotein
550	W03441	ras homolog gene family, member E
551	AL043617	KIAA0740 gene product
552	AL046910	Homo sapiens mRNA for procollagen I-N proteinase
553	AI797037	KIAA0701 protein
554	AI383731	cartilage associated protein
555	AI660479	putative Ac-like transposon
556	U86602	nucleolar protein p40
557	AA418256	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 1
558	AB011541	EGF-like domain, multiple 4
559	AI376803	Homo sapiens clone 23939 mRNA sequence
560	AI022655	Human endogenous retroviral H D2 leader region, protease region, and integrase/envelope region mRNA sequence
561	L07894	retinal outer segment membrane protein 1
562		Incye EST
563	AW024896	Human liver GABA transport protein mRNA, 3' end
564	R11267	Homo sapiens chromosome 19, cosmid F22329
565	AW206129	ubiquitin-conjugating enzyme E2H (homologous to yeast UBC8)

566	AA430381	KIAA0068 protein
567	AI565824	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, beta
568	AA027927	Human clone CE29 8.1 (CAC)n/(GTG)n repeat-containing mRNA
569	NM_004577	phosphoserine phosphatase
570	AL050121	acid-inducible phosphoprotein
571	AB014606	KIAA0706 gene product
572		Incye EST
573	AB020709	KIAA0902 protein
574	AI523935	Ras suppressor protein 1
575	AW083532	Incye EST
576	NM_000181	glucuronidase, beta
577	AI610377	ESTs, highly similar to DBI-related protein [H.sapiens]
578	D87433	KIAA0246 protein
579	AI338639	non-histone chromosome protein 2 (S. cerevisiae)-like 1
580	AA452724	programmed cell death 5
581		Incye EST
582	NM_005785	hypothetical SBB103 protein
583	U15131	suppression of tumorigenicity 5
584	R58914	KIAA0893 protein
585	H75571	RAB6, member RAS oncogene family
586	Z32684	Kell blood group precursor (McLeod phenotype)
587	AI187155	Human 100 kDa coactivator mRNA, complete cds
588	AA601014	selenophosphate synthetase 2
589	NM_002725	proline arginine-rich end leucine-rich repeat protein
590	AL117585	nucleoporin 155KD
591	AI923085	ESTs, Moderately similar to Prx2 [M.musculus]
592	M19888	small proline-rich protein 1B (cornifin)
593	M83652	properdin P factor, complement

594	AAC54491	H2B histone family, member B
595	AB025905	Homo sapiens NAKAP95 mRNA for neighbor of A-kinase anchoring protein 95, complete cds
596	AA576028	ELK1, member of ETS oncogene family
597	AF064492	LIM binding domain 2
598		polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide E (25kd)
599	AA131993	Homo sapiens mRNA for short form of beta II spectrin, partial
600	A1129762	macrophage-associated antigen
601	A1433695	target of myb1 (chicken) homolog-like 1
602	AB018317	KIAA0774 protein
603	AB007926	KIAA0457 protein
604	AF052141	Homo sapiens clone 24626 mRNA sequence
605	AM134501	ribosomal protein S3
606	AM273142	KIAA0913 protein
607	U68032	chemokine (C-C motif) receptor 6
608	U12141	hepatocyte nuclear factor 3, gamma
609	AB018281	KIAA0738 gene product
610	Y17829	Homer, neuronal immediate early gene, 1B
611	A1399686	KIAA0877 protein
612	AL034370	Norrie disease (pseudoglioma)
613	AB018311	KIAA0768 protein
614	NM_005556	keratin 7
615	AC002398	Human DNA from chromosome 19-specific cosmid F25965, genomic sequence
616	U31799	silver (mouse homolog) like
617	N90336	H. sapiens GENX-3947 mRNA, 3' UTR
618	A1657156	cyclin-dependent kinase 8
619		Incyte EST
620		glycoprotein, hormones, alpha polypeptide

621	A1831499	cystatin B (stefin B)
622	AA345614	kinesin 2 (60-70KD)
623	AI022067	APG5 (autophagy 5, <i>S. cerevisiae</i>)-like
624	AA668786	H. sapiens novel gene from PAC 117P20, chromosome 1
625	AF070580	Homo sapiens clone 24527 mRNA sequence
626	Z19550	glucosaminyl (N-acetyl) transferase 2, I-branching enzyme
627	AW205666	CD97 antigen
628	AF040723	huntingtin-associated protein 1 (neuroan 1)
629	AI584154	Homo sapiens mRNA for MTG8-related protein MTG16b, complete cds
630	AI814448	Human metallothionein (MT) I-F gene
631	AB006955	Homo sapiens mRNA for autoimmune enteropathy-related antigen AIE-75, complete cds
632	U13695	postmeiotic segregation increased (<i>S. cerevisiae</i>) 1
633	S83308	SRY (sex-determining region Y)-box 5
634	D26018	DNA polymerase delta, subunit 3
635	AF068651	LIM binding domain 2
636	NM_005739	RAS guanyl releasing protein 1 (calcium and DAG-regulated)
637		hapto globin
638	R10357	ESTs, weakly similar to 1111 ALU SUBFAMILY J WARNING ENTRY 1111 [H.sapiens]
639	AI417964	calcium channel, voltage-dependent, L-type, alpha 1s subunit
640	AI589665	Homo sapiens chromosome 19, cosmid R26529
641	AI190451	KIAA1104 protein
642	AA557260	down-regulated by activation (immunoglobulin superfamily)
643	AF044195	inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase complex-associated protein
644	U71321	FK506-binding protein 5
645	AF055019	Homo sapiens clone 24670 mRNA sequence
646	AB018261	diacylglycerol kinase, beta (90KD)

647	M96859	dipeptidylpeptidase VI
648	AB018318	K1A0775 gene product
649	AA419498	Kallmann syndrome 1 sequence
650	L00073	renin
651	A1608986	mesangium predominant gene, megsin
652	AB020667	K1A0860 protein
653	AF052130	RAB6, member RAS oncogene family
654	A1679237	chromodomain helicase DNA binding protein 2
655	AB014516	K1A0616 protein
656	NM_005253	FOS-like antigen 2
657	A1955159	heat shock 70KD protein-like 1
658	AM025438	zinc finger protein 195
659	A1109664	stomatin-like protein 1
660	AF020089	putative serine/threonine protein kinase
661	A1524284	cholinergic receptor, muscarinic 3
662	Y00083	transforming growth factor, beta 2
663	Y16787	keratin, hair, acidic, 1
664	AM104055	loss of heterozygosity, 11, chromosomal region 2, gene A
665	AF131824	hect (homologous to the E6-AP (UBE3A) carboxyl terminus) domain and RCC1 (CHC1)-like domain (RLD) 1
666		Incye EST
667	D86987	K1A0214 gene product
668	A1765758	Treacher Collins-Franceschetti syndrome 1
669	AF115436	synaptosomal-associated protein, 29KD
670	AF072164	Homo sapiens HSFE-1 mRNA, partial cds
671	AF038170	Homo sapiens clone 23817 mRNA sequence
672	A1623333	solute carrier family 1 (neuronal/epithelial high affinity glutamate transporter, system Xag), member 1
673	U09087	thymopoietin

674	AI014944	KIAA0623 gene product
675	AI686747	Homo sapiens chromosome 19, cosmid R32611
676	AB020639	estrogen-related receptor gamma
677	AI858946	KIAA0295 protein
678	M87790	immunoglobulin lambda gene cluster
679	NM_001114	adenylate cyclase 7
680	AA481712	protein geranylgeranyltransferase type 1, beta subunit
681	AB014541	apoptosis-associated tyrosine kinase
682		immediate early response 3
683	AF070637	Homo sapiens clone 24712, unknown mRNA, partial cds
684	AB018291	KIAA0748 gene product
685	AF087142	Homo sapiens TED protein (TED) mRNA, complete cds
686	AI970134	Human Chromosome 16 BAC clone CIT987SK-A-270G1
687	AA884041	bromodomain, testis-specific
688	AB015330	Homo sapiens HRIHFB2007 mRNA, partial cds
689	AW328567	heat shock 27kD protein 1
690	AB012922	metastasis-associated 1-like 1
691	AB002373	KIAA0375 gene product
692	AJ223040	Homo sapiens mRNA for LAGE-1a protein
693	U79263	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp434D193 (from clone DKFZp434D193)
694		Incye EST
695	NM_004713	Incye EST
696		Incye EST
697	AF030099	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 12
698	NM_003501	acyl-Coenzyme A oxidase 3, pristanoyl
699	AL023754	Human gene isolated from PAC 272L16, chromosome 1, similar to calcium/calmodulin dependent protein kinases
700	AA313801	succinate dehydrogenase complex, subunit B, iron sulfur (Ip)

701	AW006162	Homo sapiens unknown mRNA
702	AA534580	serine/threonine kinase with Dbl- and pleckstrin homology domains
703	U80736	Homo sapiens CAGF9 mRNA, partial cds
704	NM_006052	Down syndrome critical region protein A
705	AL035702	ras GTPase activating protein-like
706	Y00811	membrane metallo-endopeptidase (neutral endopeptidase, enkephalinase, CALLA, CD10)
707	AF038194	Homo sapiens clone 23821 mRNA sequence
708	X82634	keratin, hair, acidic, 3B
709	Y10256	serine/threonine protein-kinase
710	Z39133	thyroid hormone receptor interactor 8
711	AB014538	KIAA0638 protein
712	AA757170	Vertebrate LIN7 homolog 1, Tax interaction protein 33
713	AB020691	KIAA0884 protein
714	AL080136	sperm associated antigen 6
715	AL041001	phosphofructokinase, liver
716	NM_005065	sel-1 (suppressor of lin-12, C.elegans)-like
717	NM_006032	copine VI (neuronal)
718	M65291	interleukin 12A (natural killer cell stimulatory factor 1, cytotoxic lymphocyte maturation factor 1, p35)
719	AA908938	KIAA0729 protein
720	U49065	interleukin 1 receptor-like 2
721	AA678577	energy-dependent regulator of proteolysis
722		polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide D
723	M14764	nerve growth factor receptor (TNFR superfamily, member 16)
724	AA426092	Human DNA sequence from clone 413H6 on chromosome 6p22.3-24.3. Contains a hamster Androgen-dependent Expressed Protein like protein gene, ESTs and GSSs
725	AI435834	Homo sapiens mRNA for nebulin, incomplete splice variant,

		partial
726	AA436295	Chromosome 1 specific transcript. KIAA0491
727	AI741331	BCI2-antagonist/killer 1
728	U61500	transmembrane protein 1
729	AI982899	Homo sapiens mRNA for uroplakin 1b, complete cds
730	U22816	protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide (PTPRF), interacting protein (liprin), alpha 1
731	AI345466	transcriptional adaptor 3 (ADA3, yeast homolog)-like (PCAF histone acetylase complex)
732	AI698095	KIAA0699 protein
733	AB020651	KIAA0844 protein
734	AL023653	Human gene from PAC 753P9, chromosome X
735	X86018	calcium channel, voltage-dependent, alpha 2/delta subunit 1
736		Incyte EST
737	NM_005907	mannosidase, alpha, class 1A, member 1
738		Incyte EST
739	AW250734	NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1 (51KD)
740	NM_004291	cocaine- and amphetamine-regulated transcript
741	AI692892	Homo sapiens clone 24767 mRNA sequence
742	U50536	Human BRCA2 region, mRNA sequence CG011
743	NM_001114	adenylate cyclase 7
744	X74328	cannabinoid receptor 2 (macrophage)
745	U54786	killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 1
746	NM_004285	hexose-6-phosphate dehydrogenase, glucose 1-dehydrogenase
747	AC005234	adducin 2 (beta)
748	AA912911	Homo sapiens hepatitis A virus cellular receptor 1 (hHAVcr-1) mRNA, complete cds
749	M89796	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; beta polypeptide

750	AI754384	NCK adaptor protein 1
751	J03824	uroporphyrinogen III synthase (congenital erythropoietic porphyria)
752	AB018286	neurexin III
753	X94333	trans-Golgi network protein (46, 48, 51kD isoforms)
754	Z34817	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit
755	AI188660	protein tyrosine kinase 9-like (A6-related protein)
756		interleukin 1, beta
757	U90552	butyrophilin, subfamily 3, member A1
758	AW150631	Hairpin binding protein, histone
759	AI800553	enoyl-Coenzyme A, hydratase/3-hydroxyacyl Coenzyme A dehydrogenase
760	D82837	Human histo-blood group A transferase (UDP-GalNAc) mRNA, complete cds
761	AW172754	Human Ig J chain gene
762	U34683	glutathione synthetase
763		elastin (supravalvular aortic stenosis, Williams-Beuren syndrome)
764		Incye EST
765	U41740	golgi autoantigen, golgin subfamily a, 4
766	S60415	calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit
767	AB010961	matrix metalloproteinase 23A
768	AA600907	clathrin, light polypeptide (Lcb)
769	U88573	Incye EST
770	AC002301	Homo sapiens Chromosome 16 BAC clone CIT987SK-A-328A3
771		Incye EST
772	AB005659	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 5
773	AA649071	single-stranded DNA-binding protein
774	AW005044	ESTs, highly similar to herpesvirus entry protein C [H.sapiens]
775		Incye EST

776	AF056085	G protein-coupled receptor 51
777	X96969	solute carrier family 14 (urea transporter), member 2
778	AA311658	T-cell receptor, beta cluster
779		Incye EST
780		Incye EST
781	NM 005267	gap junction protein, alpha 8, 50KD (connexin 50)
782	AB029290	actin binding protein
783	AA401413	CCAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta
784	AI394608	Homo sapiens DNA binding protein homolog (DRIL1) mRNA, complete cds
785	X84740	ligase III, DNA, ATP-dependent
786	X04325	gap junction protein, beta 1, 32kD (connexin 32, Charcot-Marie-Tooth neuropathy, X-linked)
787	AB002360	KIAA0362 protein
788	U80456	single-minded (Drosophila) homolog 2
789	NM 000951	ESTs
790	AF035288	Homo sapiens clone 23955 mRNA sequence
791	U78294	arachidonate 15-lipoxygenase, second type
792	AF001436	Cdc42 effector protein 2
793	U93871	RAP2 interacting protein 8
794	AL050172	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586F1322 (from clone DKFZp586F1322)
795	M13560	CD74 antigen (invariant polypeptide of major histocompatibility complex, class II antigen-associated)
796	AF007153	Homo sapiens clone 23736 mRNA sequence
797	U94346	calpain 5
798	AB006077	deleted in oral cancer (mouse, homolog) 1
799	AI418898	ribonuclease, RNase A family, K6
800	H72532	metallothionein 1E (functional)
801	NM 006847	leukocyte immunoglobulin-like receptor 5

802	Y10746	methyl-CpG binding domain protein 1
803	A1201243	KF2 protein
804	AB021638	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family A, member 3 (X11-like 2)
805	AL043681	ESTs, Moderately similar to dishevelled-1 protein [M.musculus]
806	AA642559	cyclic nucleotide gated channel alpha 1
807	NM_000046	arylsulfatase B
808	AA306891	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 2 (beta, 36kd)
809	AA857067	ribosomal protein L23a
810	AA777764	checkpoint suppressor 1
811	U11870	interleukin 8 receptor, alpha
812	U08853	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 1
813	AF058918	Homo sapiens unknown mRNA
814	NM_006142	stratifin
815	NM_006355	Ro/SSA ribonucleoprotein homolog
816	NM_001670	arnadillo repeat gene deletes in velocardiofacial syndrome
817	NM_002560	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4
818	U92322	sulfotransferase family 2B, member 1
819	U81504	Beta-3A-adaptin
820	AB007863	Homo sapiens KIAA0403 mRNA, partial cds
821	U58048	protease, metallo, 1, 33kd
822	NM_003314	tetratricopeptide repeat domain 1
823	NM_006016	sialomucin CD164
824	AW089434	signal recognition particle 54kd
825	A1768355	neuromedin B
826	U09215	polymyositis/scleroderma autoantigen 1 (75kd)
827	M69225	bullous pemphigoid antigen 1 (230/240kd)
828	NM_004323	BC12-associated athanogene

829	AA485586	chondroitin sulfate proteoglycan 6 (bamacan)
830	L76703	protein phosphatase 2, regulatory subunit B (B56), epsilon isoform
831	NM_007075	JM5 protein
832	L02648	transcobalamin II; macrocytic anemia
833	NM_002477	myosin, light polypeptide 5, regulatory
834	NM_007315	Homo sapiens transcription factor ISGF-3 mRNA, complete cds
835	AW351829	Human clone C3 CHL1 protein (CHLR1) mRNA, alternatively spliced, complete cds
836	A1989443	osteomodulin
837	NM_006272	S100 calcium-binding protein, beta (neural)
838	D86961	lipoma HMGIC fusion partner-like 2
839	L38951	karyopherin (importin) beta 1
840	U19796	melanoma-associated antigen recognised by T lymphocytes
841	NM_000976	ribosomal protein L12
842	A1572008	Homo sapiens actinin-associated LIM protein mRNA, complete cds
843	U28946	SRB7 (suppressor of RNA polymerase B, yeast) homolog
844	NM_004625	wingless-type MMTV integration site family, member 7A
845	D86959	KIAA0204 gene product
846	NM_002079	glutamic-oxaloacetic transaminase 1, soluble (aspartate aminotransferase 1)
847	U28369	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3B
848	U40282	integrin-linked kinase
849	J04474	branched chain keto acid dehydrogenase E1, alpha polypeptide (maple syrup urine disease)
850	NM_004906	gene predicted from cDNA with a complete coding sequence
851	U60061	zyglin 2
852	A1739539	platelet factor 4

853	AB011131	KIAA0559 protein
854	NM_006417	interferon-induced, hepatitis C-associated microtubular aggregate protein (44kD)
855	AA961387	osteoblast specific factor 2 (fasciclin I-like)
856	L28821	mannosidase, alpha, class 2A, member 2
857	D49677	U2 small nuclear ribonucleoprotein auxiliary factor, small subunit 2
858	AB000584	prostate differentiation factor
859	D67025	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3
860	AI637917	Homo sapiens clone IMAGE 21721
861	AA976578	SRY (sex-determining region Y)-box 10
862	U97198	nucleoporin-like protein 1
863	AI952703	tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (erythroid potentiating activity, collagenase inhibitor)
864	AA490069	ESTs
865	AA813571	adenomatosis polypsis coli
866	AA662785	ESTs
867	AI015241	ESTs
868	T96690	ESTs
869	AI306588	ESTs
870	AI990381	ESTs, weakly similar to KIAA0475 protein [H.sapiens]
871	AA258217	ESTs
872		Incye EST
873	AA232240	EST
874	AI056715	ESTs
875	AA194161	ESTs
876	AI075045	ESTs
877	T64957	ESTs
878	AI581085	ESTs

879	AA811295	ESTs	
880	AA653455	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp566I1546 (from clone DKFZp566I1546)	
881	NS1086	ESTs, weakly similar to reverse transcriptase related protein [H.sapiens]	
882	AA938905	olfactory receptor, family 7, subfamily E, member 12 pseudogene	
883	NS1843	ESTs	
884		ESTs	
885	AA279943	ESTs	
886	AA303374	ESTs	
887	AI569602	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp434D174 (from clone DKFZp434D174)	
888	AA448003	ESTs	
889	AI052511	ESTs	
890	AA863329	ESTs	
891	AI363134	ESTs	
892	AI492223	ESTs	
893	AI094117	ESTs	
894	AI274567	ESTs	
895	W46422	ESTs	
896	AA004426	ESTs	
897		Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp434P1550 (from clone DKFZp434P1550)	
898	AI421852	ESTs	
899	R18800	ESTs	
900	AW051955	ESTs	
901		Incyle EST	
902	AI086855	ESTs	
903	AW050796	ESTs	
904	AI277889	ESTs	
905	AA455789	ESTs, weakly similar to orf, len: 159, CAI: 0.12 [S.cerevisiae]	

906	Z39419	ESTs	
907	AA609161	ESTs	
908	AA703048	ESTs	
909	AI684991	ceruloplasmin (ferroxidase)	
910	AA827495	ESTs	
911	AI186031	ESTs	
912	AA843122	ESTs	
913	AI285001	ESTs	
914	R42468	ESTs	
915	N62332	EST	
916	AI570478	protein kinase C, theta	
917	AI989800	chondroitin sulfate proteoglycan 5 (neuroglycan C)	
918	AB018307	KIAA0764 gene product	
919	AI920902	ESTs, Moderately similar to [H.sapiens] ENTRY [H.sapiens]	WARNING
920	AI243872	ESTs	
921	AA676952	ESTs	
922	AW167804	ESTs	
923	AW242517	ESTs	
924	W72350	ESTs, Highly similar to prediabetic NOD sera-reactive autoantigen [M.musculus]	
925	H49213	ESTs, Weakly similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY SX WARNING ENTRY [H.sapiens]	
926	AI004192	ESTs	
927	AA640244	ESTs	
928	AI038703	ESTs, Weakly similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY SB2 WARNING ENTRY [H.sapiens]	
929	T25873	ESTs	
930	AA814773	ESTs	

931	AA910081	ESTs	
932	AA203670	no arches-like (zebrafish) zinc finger protein; CLEAVAGE-POLYADENYLATION SPECIFICITY FACTOR, 30-KD	
933	AI635003	ESTs	
934	AI023543	ESTs	
935	AI609073	ESTs	
936	AW024492	ESTs	
937	AW173154	ESTs	
938	AW021115	mannosidase, alpha, class 1A, member 2	
939	AA708109	ESTs, weakly similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY SB2 WARNING ENTRY [H.sapiens]	
940	AF087135	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1F0, subunit d	
941	AI435603	ESTs, weakly similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY J WARNING ENTRY [H.sapiens]	
942	AI829607	ESTs	
943	AI472111	ESTs	
944	AI220071	ESTs, highly similar to Kruppel-associated box protein [H.sapiens]	
945	AA732531	KIAA1039 protein	
946	AI657033	ESTs	
947		Incyle EST	
948	AA451709	ESTs	
949	AA443725	ESTs	
950	AA846512	ESTs, Moderately similar to [H.sapiens] ALU SUBFAMILY SQ WARNING ENTRY [H.sapiens]	
951	AA937116	ESTs	
952	AI204090	ESTs	
953	AI377988	ESTs	
954	W73726	ESTs	

955	N62902	ESTs	
956	AI831729	ESTs	
957	AW268404	ESTs	
958	AL133995	ESTs	
959	H96791	EST	
960	AI016585	ESTs	
961	AW249842	ESTs	
962	AW163204	ESTs	
963	AI683136	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 10 (42KD)	
964	N34786	ESTs	
965	AI760446	ESTs	
966	N66152	EST	
967	AI510780	chromosome 21 open reading frame 5	
968	AA203197	ESTs	
969	AI927807	ESTs	
970	AI191874	ESTs, highly similar to G1 TO S PHASE TRANSITION PROTEIN 1 HOMOLOG [H.sapiens]	
971	AI732118	ESTs, weakly similar to OXYSTEROL-BINDING PROTEIN [H.sapiens]	
972		ESTs, weakly similar to putative p150 [H.sapiens]	
973	AI591379	ESTs	
974	AI948861	ESTs, weakly similar to 1111 ALU SUBFAMILY SQ WARNING ENTRY 1111 [H.sapiens]	
975	AI025482	ESTs	
976		ESTs	
977	AI589474	ESTs	
978	AW341691	ESTs	
979	AI748813	ESTs, weakly similar to period clock protein [M.musculus]	
980	AI379434	tyrosylprotein sulfotransferase 2	
981	AA706003	ESTs	

982	AI750558	ESTS	
983	AI018306	ESTS	
984	AI003801	ESTS	
985	AI248153	ESTS	
986	AW294129	ESTS	
987	AA749317	ESTS	
988	AA806445	ESTS	
989	H53053	ESTS	
990	AI051616	ESTS	
991	AI034084	ESTS	
992	N63059	ESTS	
993	AI589630	ESTS	
994	AA034117	ESTS	
995	AA458994	polymyositis/scleroderma autoantigen 1 (75kd)	
996	AI057634	ESTS	
997	AI244273	ESTS	
998	N21972	EST	
999	AL050091	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZP586F1918 (from clone DKFZP586F1918)	
1000	AA653016	ESTS	
1001	AI332415	ESTS	
1002	AL050081	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZP566J2146 (from clone DKFZP566J2146)	
1003	AA206786	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 7	
1004	AI336520	ESTS	
1005	AI215021	ESTS, Weakly similar to putative seven pass transmembrane protein [H.sapiens]	
1006	AI623128	ESTS, weakly similar to [!!!] ALU CLASS C WARNING ENTRY [!!!] [H.sapiens]	
1007	AW102727	KIAA0615 gene product	
1008	AI671183	adenylyl cyclase-associated protein 2	

1009	AI086814	ESTs
1010	AA829781	ESTs
1011	AA454618	Homo sapiens clone 23625 mRNA sequence
1012	AI638190	ESTs
1013	AI767392	ESTs
1014	AI401081	cyclin-dependent kinase 9 (CDC2-related kinase)
1015	N24490	ESTs
1016	AA805635	ESTs
1017	AI371317	ESTs
1018	AA636041	ESTs, Weakly similar to unknown [S.cerevisiae]
1019	AA225193	ESTs
1020	AI263389	ESTs
1021	AW082223	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp586G1517 (from clone DKFZp586G1517)
1022	AI589810	ESTs
1023	AI569739	ESTs
1024	AI745327	ESTs
1025	W37319	ESTs
1026	AI282666	ESTs, Weakly similar to Trif [M.musculus]
1027	AI346927	Homo sapiens mRNA; CDNA DKFZp564M112 (from clone DKFZp564M112)
1028	AA488910	ESTs
1029	AA156906	ESTs
1030	AI078119	ESTs, Weakly similar to KIAA0167 protein [H.sapiens]
1031	AA477900	ESTs
1032	AW364680	ESTs, Weakly similar to gene pp21 protein [H.sapiens]
1033	AW071610	ESTs
1034	AI453320	ESTs
1035	N29963	ESTs, Weakly similar to neuronal thread protein AD7c-NTF [H.sapiens]

1036	AB029016	KIAA1093 protein
1037	AF124604	growth factor, erv1 (S. cerevisiae)-like (augmenter of liver regeneration)
1038	AW027215	ESTs, Weakly similar to SPLICEOSOME ASSOCIATED PROTEIN 62 [H.sapiens]
1039	AI337322	ESTs, Weakly similar to similar to murine cell cycle regulator MDA1 [H.sapiens]
1040	R69648	ESTs
1041	AA665998	cofactor required for Sp1 transcriptional activation, subunit 9 (33kd)
1042	AA481144	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp566D133 (from clone DKFZp566D133)
1043	AI658942	ESTs
1044	AI266710	gamma2-adaptin
1045	AI200193	ESTs
1046	AI048372	ESTs, Weakly similar to unknown [D.melanogaster]
1047	AI587179	ESTs
1048	AI139145	ESTs
1049	AI075324	anterior gradient 2 (Xenopus laevis, secreted cement gland) homolog
1050	AI702539	ESTs
1051	AI373839	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide A (220kd)
1052	AA261857	ESTs
1053	N92944	fibrinogen-like 1
1054	AI273612	Human DNA sequence from clone 380A1 on chromosome 16. Contains two novel genes, ESTs, an STS, GSSs and five putative CpG islands
1055	AA779756	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp566B213 (from clone DKFZp566B213)
1056	AA587284	ESTs
1057	AI302370	ESTs, Weakly similar to VERY-LONG-CHAIN ACYL-COA SYNTHETASE [H.sapiens]

1058	AA256649	ESTs	
1059	AA457718	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp564B076 (from clone DKFZp564B076)	
1060	N47785	EST	
1061	AA340539	ESTs	
1062	AA687278	ESTs	
1063	AL117462	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586G1122 (from clone DKFZp586G1122)	
1064	AA412723	ESTs	
1065	AI129433	ESTs, Weakly similar to ORF YOR150w [S.cerevisiae]	
1066	AI421404	ESTs	
1067	AI273963	ESTs	
1068	AI279587	ESTs	
1069	AW276523	myosin IE	
1070	AA890538	Mitochondrial Ribosome Recycling Factor	
1071	AI796794	ESTs	
1072	AW270040	ESTs	
1073	AI766238	KIAA0993 protein	
1074	W02877	ESTs, Highly similar to breakpoint cluster region protein 2 [H.sapiens]	
1075	AA632415	ESTs	
1076	AI823794	ESTs	
1077		ESTs	
1078	AI885154	ESTs	
1079	AW241985	ESTs	
1080	N51056	ESTs	
1081	AI954548	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586J1822 (from clone DKFZp586J1822)	
1082	AA639180	ESTs	
1083	AI383756	high-mobility group (nonhistone chromosomal) protein 1	
1084	AI187171	ESTs	

1085	AI419510	ESTs, weakly similar to T-COMPLEX TESTIS-SPECIFIC PROTEIN 1 HOMOLOG [H.sapiens]
1086		eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 3
1087	N27386	mannosidase, alpha, class 1A, member 2
1088	AI827851	ESTs
1089	AW275347	ESTs, weakly similar to 1111 ALU SUBFAMILY SQ WARNING ENTRY 1111 [H.sapiens]
1090	AA523847	ESTs
1091	AL048161	ESTs
1092	AI375382	ESTs, weakly similar to OCTAPEPTIDE-REPEAT PROTEIN T2 [M.musculus]
1093	AA888876	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp566H2446 (from clone DKFZp566H2446)
1094	AI146837	ESTs
1095	AI743070	ESTs
1096	AW170628	Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp586B0519 (from clone DKFZp586B0519)
1097	AB028952	synaptopodin
1098	AA493565	ESTs, weakly similar to CGI-69 protein [H.sapiens]
1099	W67739	ESTs
1100	AI002781	Human guanine nucleotide exchange factor mRNA, complete cds
1101	AI702954	transmembrane 4 superfamily member 1
1102	AA856763	ESTs
1103	AA292417	ESTs
1104	AI753724	ESTs
1105	AA478641	ESTs
1106	AI660974	ESTs, weakly similar to MICROTUBULE-ASSOCIATED PROTEIN 1B [M.musculus]
1107	AI753360	ESTs
1108		Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp564L0822 (from clone DKFZp564L0822)
1109	AI193075	ESTs, weakly similar to KIAA0206 [H.sapiens]

1110	AI383770	ESTs	
1111	D58019	ESTs, Moderately similar to KIAA0909 protein [H.sapiens]	
1112	AI279177	ESTs, Highly similar to ARL-6 interacting protein-2 [M.musculus]	
1113	AI333482	ESTs, Moderately similar to KIAA0952 protein [H.sapiens]	
1114	AI684590	ESTs	
1115	AA501971	ESTs	
1116	AM247346	ESTs, Highly similar to vacuolar sorting protein 4 [H.sapiens]	
1117	AL117621	Homo. sapiens mRNA; CDNA DKFZp564M0264 (from clone DKFZp564M0264)	
1118	AA721277	ESTs	
1119	AW188221	ESTs, Weakly similar to W01A11.2 gene product [C.elegans]	
1120	AI633987	Homo. sapiens mRNA; CDNA DKFZp586P0123 (from clone DKFZp586P0123)	
1121	AM264238	ESTs	
1122	AM026224	ESTs, Weakly similar to predicted using Genefinder [C.elegans]	
1123	AA707000	ESTs	
1124	AI374903	ESTs	
1125	AA885516	ESTs	
1126	AW016451	dermatopontin	
1127	N66731	ESTs	
1128	AM005921	similar to Caenorhabditis elegans protein C42C1.9	
1129	AM009781	ESTs, Weakly similar to putative transmembrane protein E3-16 [H.sapiens]	
1130	AI093508	KIAA0758 protein	
1131	AI383628	KIAA1037 protein	
1132	Z99716	sterol regulatory element binding transcription factor 2	
1133	AI808803	ESTs	
1134	AI146299	progesterone membrane binding protein	
1135	AI497681	ESTs, Weakly similar to [H.sapiens] AUU SUBFAMILY SC WARNING ENTRY [H.sapiens]	
1136	W73588	ESTs	

1137	AA970254	ESTs
1138	AI912603	ESTs
1139	AI183409	ESTs, Moderately similar to putative Rab5-interacting protein {clone LI-57} [H.sapiens]
1140	AF131754	Homo sapiens clone 25085 mRNA sequence
1141	AI422423	ESTs
1142	AI912873	Human GABA-A receptor pi subunit mRNA, complete cds
1143	AI753292	ESTs
1144	AA203222	chondrocyte-derived ezrin-like protein
1145	N92652	ESTs
1146	AA045351	ESTs
1147	AI190653	ESTs, Weakly similar to R12C12.6 [C.elegans]
1148	AA134958	ESTs
1149	AW249524	stromal cell-derived factor 2
1150	AL031178	Human DNA sequence from clone 341E18 on chromosome 6p11.2-12.3. Contains a Serine/Threonine Protein Kinase gene (presumptive isoform of a Rat gene) and a novel alternatively spliced gene. Contains a putative CpG island, ESTs and GS
1151	AA477581	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1
1152	D89617	heat shock 27KD protein 2

<실시예 2>

본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자의 용해온도 측정

<95>

본 발명자들은 상기 실시예 1에서 제조된, 단일 유전자를 포함하는 환형 분자가 단일가닥임을 확인하기 위해, 용해온도(melting temperature, T_m)을 측정하였다. 이를 위해, CD44 항원 유전자가 삽입된 재조합 pSPORT1 페이지미드 유래의 단일가닥 환형 분자를 실험대상으로 하고, 대조구로는 이중가닥 재조합 pSPORT1 페이지미드를 사용하였다. 먼저, 상기 CD44 항원 유전자를 포함하는 단일가닥 환형분자와 이중가닥 pSPORT1 페이지미드를 100 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$ 및 10 mM 나트륨 PIPES(Sigma, USA)를 함유하는 용액에 용해시켰다. 이후, 상기 용액을 95°C 까지 가열한 후 상온까지 서냉하여 열변성(thermal denaturation)시켰다. 이 때, 온도가열은 0.5°C/3분의 속도로 하였다.

<96>

이후, 펠티어 온도 조절기(peltier temperature controller)가 부착된 디오드 어레이 흡광분광계(diode array spectrophotometer, Hewlett Packard, USA)를 이용하여 용해온도를 측정하였다. 온도를 30°C에서 95°C로 올리면서, 3분 간격으로 매 5°C 상승시의 흡광도를 측정하였다. 260 nm에서의 흡광도를 모니터한 결과, 이중가닥 페이지미드의 경우, 87°C 부근에서 뚜렷하게 흡광도 변화(chromatic change)가 일어난 반면(도 3의 A 참조), 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자의 경우에는 54°C 부근에서부터 완만한 경사를 나타내는 흡광도 변화를 보였다(도 3의 B 참조). 이러한 용해점의 감소는 본 발명에 따른 환형분자가 단일가닥임을 나타내는 것이다. 이 결과를 기초로 본 발명자들은 DNA 칩 어세이를 위한 적정 혼성화 온도(optimal hybridization temperature)를 설정하였다.

<97> <실시예 3>

<98> 본 발명에 따른 단일가닥 환형 분자를 이용한 DNA 칩의 제조

<99> 상기 실시예 1에서 제조한 단일가닥 환형 분자들을 농축한 후, 10 μ l의 3X SSC(standard saline citrate)용액으로 다시 용해시켰다. 이후, 마이크로어레이어 (OmniGridTM Microarrayer, GeneMachines, Inc., USA)를 이용하여 아미노-실란이 코팅된 슬라이드 글래스(Corning, USA)의 표면에 심었다. 상기 슬라이드를 300mJ의 단파장 자외선 조사로 교차결합(cross-linking)(Stratalinker, Stratagene, USA)시킨 후, 사용하기 전까지 데시케이터(desiccator)에 보관하였다.

<100> <실험예 1>

<101> 본 발명에 따른 DNA 칩을 이용한 간암 조직에서의 유전자 발현 변이 분석

<102> 상기 실시예 3에서 제조한 DNA 칩의 유용성을 확인하기 위해, 상기 DNA 칩을 이용하여 간암 조직에서의 유전자 발현 변이를 조사하였다. 먼저, 목적 DNA를 얻기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 간암 조직 및 간정상 조직(대조구)을 인산염-완충 생리식염수(phosphate-buffered saline)로 세척한 후, 절개하였다. 이후, 적정량의 트리졸 시약(TRIzol Reagent, GibcoBRL, USA)에 넣어 10분 동안 균질화(homogenization)시켰다. 균질화된 조직으로부터 공지의 방법에 따라 전체 RNA(total RNA)를 분리하고, 다시 이로부터 RNA 분리 키트(poly (A) Quick mRNA

Isolation Kit, Stratagene, USA)를 이용하여 폴리(A)⁺ mRNA를 정제하였다. 이후, 간 정상 및 간암 조직 유래의 poly(A)⁺ mRNA 2 μ g을 각각 Cy3-dUTP 및 Cy5-dUTP의 존재 하에서 cDNA로 역전사시켰다. 역전사시 프라이머로는 올리고-dT 프라이머 (5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTVN-3')(Genotech, Korea)를 사용하였다. 표식한 cDNA를 칼럼(microcon-30 column, Millipore, USA)으로 정제한 다음, 80 μ l의 혼성화 용액 (hybridization solution; 3X SSC, 0.3% SDS)으로 재용해하였다. 그리고 나서, 100 $^{\circ}$ C에서 2분간 열변성하여 상기 실시예 3에서 제조한 DNA 칩에 올려 놓았다. 이후, 60 $^{\circ}$ C 조건의 습윤기(humidified chamber) 내에서 16시간 동안 혼성화반응을 시켰다. 혼성화 반응이 끝난 후, DNA 칩을 2X SSC 용액으로 2분, 0.1X SSC 및 0.1% SDS 용액으로 5분, 그리고 0.1X SSC 용액으로 5분간 각 1회씩 세척한 후, 건조하여 스캐닝하였다.

<103> 상기 DNA 칩에 결합된 Cy3 및 Cy5의 형광 광도를 스캐너(GenePix 4000B scanner, Axon instruments, USA)를 이용하여 측정하였다. 이 때 Cy3와 Cy5의 PMT(photo multiplier tubes) 값은 각각 450과 500이었다. 이후, 스캐닝으로 수집된 화상 (image)을 소프트웨어(GenePix Pro 3.0 software)를 이용하여 분석하였고(도 4 참조), 각 데이터는 log2 변형(transformation) 후 스캐터 플롯팅(scatter-plotting)하였다(도 5 참조). 이 때, 형광 시그널 강도(signal intensity value)는 각 점(spot)의 강도 중간값(intensity median value)에서 배경 중간값(background median value)을 제하여 결정하였으며, 중간값 총계가 200 이하인 유



전자들은 후속 데이터 프로세싱에서 제외하였다. 또한, 각 유전자의 발현 수치(expression value)는 하나의 배수 정규화 인자(multiplicative normalization factor)로 정상화하였고, 이를 모든 Cy5/Cy3 비율에 적용하였다. 따라서, 정규화된 Cy5/Cy3의 중간값(median normalized Cy5/Cy3)은 1.0이 되었다.

<104> 그 결과, 본 발명에서 탐침 DNA로 사용한 1,152개의 유전자 중 간정상 조직에 비해 간암 조직에서 그 발현이 상향 조절된 29개(약 2.5%)의 유전자를 탐색할 수가 있었다(표 2 참조). 이 중에서 CD44 항체, IMP 탈수소화 효소, 다중 엔도크린 네오플레지아 I 및 칼슘/칼모듈린-의존성 단백질 키나아제 2는 간암 관련 유전자로 이미 보고된 바 있다. 이와 반대로 간암 조직에서 발현이 하향 조절된 6개(약 0.5%)의 유전자 또한 탐색할 수 있었으며(표 3 참조), 이들 중 특히 피브리노겐-유사 1은 ATL(adult T cell leukemia) 세포에서 하향조절되는 것으로 이미 보고된 바 있다.

<105> 상기 결과로부터, 본 발명에 따라 제조된 단일가닥 환형 분자가 탐침 DNA로서 유용하게 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 본 발명에 따라 단일가닥 환형 분자가 기판 상에 고정화된 DNA 칩이 차별적 발현을 보이는 유전자를 탐색하는데 유용하게 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

<106> 표 2: 간암 조직에서 상향 조절된 유전자

<107>

유전자 명	중간값의 비 (ratio of median)
CD44 항체(CD44 antigen, homing function and Indian blood group system)	6.3
싸이토크롬 P450(Cytochrome P450; subfamily IIE, ethanol-inducible)	6.1
전사 신장 인자 A(Transcription elongation factor A, SII 1)	5.8
IMP 탈수소화효소 2(inosine monophosphate dehydrogenase 2)	5.5

ESTs(Weakly similar to KIAA0206 [H.sapiens])	5.6
트로포미오신의 인간 골격 근육 1.3 kb mRNA(Human skeletal muscle 1.3 kb mRNA for tropomyosin)	4.8
KIAA0701 단백질	4.8
전사신장인자 S-II, hS-II-T1의 mRNA(mRNA for transcription elongation factor S-II, hS-II-T1)	5.2
상염색체 도미넌트 5(Deafness, autosomal dominant 5)	5.1
KIAA1037 단백질	4.8
KIAA0375 유전자 산물(gene product)	4.5
프레폴딘(Prefoldin) 5	4.2
KIAA0710 유전자 산물	4.1
호메오도메인 전사인자 1(Paired-like homeodomain transcription factor 1)	4.3
망막 바깥부분 막 단백질 1(Retinal outer segment membrane protein 1)	4.4
ESTs	3.8
MYC-결합된 아연 핑거 단백질(MYC-associated zinc finger protein; purine-binding transcription factor)	3.6
유비퀴틴 결합 효소 E2L 3(Ubiquitin-conjugating enzyme E2L 3)	4.1
염색체 1에 위치하는 신규한 인간 유전자(Novel human gene mapping to chromosome 1)	3.9
호모 사피엔스 클론 24421 mRNA 서열(Homo sapiens clone 24421 mRNA sequence)	3.9
호모 사피엔스 mRNA(Homo sapiens mRNA; cDNA DKFZp566J2146)	3.5
염색체 응축 1- 유사(Chromosome condensation 1-like)	3.5
KIAA0902 단백질	2.9
다중 엔도크린 네오플라시아 I (Multiple endocrine neoplasia I)	2.7
단백질 티로신 키나아제-9 유사물(Protein tyrosine kinase 9-like; A6-related protein)	2.6
ESTs(Weakly similar to ORF YOR150w [S. cerevisiae])	2.4
전사 신장 인자 B(Transcription elongation factor B; SIII, polypeptide 2)	2.4
칼슘/칼모둘린-의존성 단백질 키나아제 2 베타(Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2, beta)	2.4
Sp1 전사적 활성화에 필요한 보조인자(Cofactor required for Sp1 transcriptional activation, subunit 9)	2.1

<108>

표 3: 간암 조직에서 하향 조절된 유전자

<109>

유전자 명	중간값의 비
막관통 프로테아제(Transmembrane protease, serine 2)	0.48
피브리노겐-유사물 1(Fibrinogen-like 1)	0.42
칼슘/칼모둘린 의존성 단백질 키나아제와 유사한, PAC 272L16(염색체 1)로부터 분리된 인간 유전자(Human gene isolated from PAC 272L16, chromosome 1, similar to calcium/calmodulin dependent protein kinases)	0.35
사멸 도메인을 갖는 연결자를 포함하는 CASP2 및 PIPK1 도메인(CASP2 and RIPK1 domain containing adaptor with death domain)	0.35
아리아드네 호모로그(Ariadne homolog)	0.35
NADH 탈수소효소(유비퀴틴) 플라보단백질 1(NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1)	0.29

**【발명의 효과】**

<110>

이상 살펴본 바와 같이, 본 발명에서는 단일가닥 환형 분자가 탐침 DNA로서 유용하게 이용될 수 있음을 확인하였으며, 또한 상기 단일가닥 환형 분자를 이용한 DNA 칩의 유용성도 확인하였다. 본 발명에 따른 DNA 칩은 질병 관련 유전자 군을 탐색하거나, 또는 각 질병들에 대한 다양한 발현 양상을 조사하는데 유용하게 이용될 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

탐침 DNA로서 원하는 유전자의 DNA를 포함하는 단일가닥 환형 분자가 기판 상에 고정화된 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 단일가닥 환형 분자는 원하는 유전자의 DNA를 페이지미드(phagemid) 또는 박테리오페이지(bacteriophage)에 클로닝하여 이를 헬퍼 페이지(helper phage)에 감염시킨 대장균에 도입하거나, 또는 대장균에 도입한 후 헬퍼 페이지에 감염시켜 배양함으로써 제조된 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 3】

제 2항에 있어서, 상기 페이지미드는 pSPORT1, pBluescript II SK(+/-) 또는 KS(+/-), pGEM-f, M13mp, pCR2.1, pGL2 및 p β gal로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 4】

제 2항에 있어서, 상기 박테리오페이지는 M13 박테리오페이지, f1 박테리오페이지 및 fd 박테리오페이지로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는



DNA 칩.

【청구항 5】

제 2항에 있어서, 상기 헬퍼 페이지는 M13K07인 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 6】

제 1항에 있어서, 상기 기판은 아미노-실란(amino-silane), 폴리-L-라이신(poly-L-lysine) 및 알데히드(aldehyde)로 이루어진 군에서 선택되는 하나의 활성기가 코팅된 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 7】

제 1항 또는 제 6항에 있어서, 상기 기판은 슬라이드 글래스, 플라스틱, 금속, 실리콘, 나일론 막 및 니트로셀룰로스 막으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 8】

a) 원하는 유전자의 DNA를 페이지미드 또는 박테리오페이지에 삽입하여 재조합 페이지미드 또는 재조합 박테리오페이지를 제조하는 단계;

b) 상기 재조합 페이지미드 또는 재조합 박테리오페이지를 헬퍼 페이지에 감

염시킨 대장균에 도입하거나, 또는 대장균에 도입한 후 헬퍼 페이지를 감염시켜 배양하는 단계;

c) 형질전환체의 배양액으로부터 단일가닥 환형 분자를 분리 및 정제하는 단계;

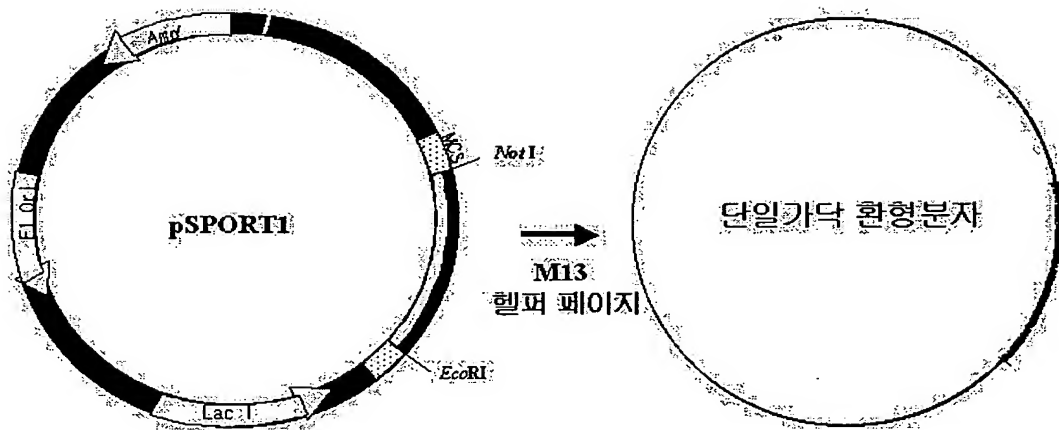
d) 정제된 단일가닥 환형 분자를 기판 상에 고정화시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 DNA 칩의 제조방법.

【청구항 9】

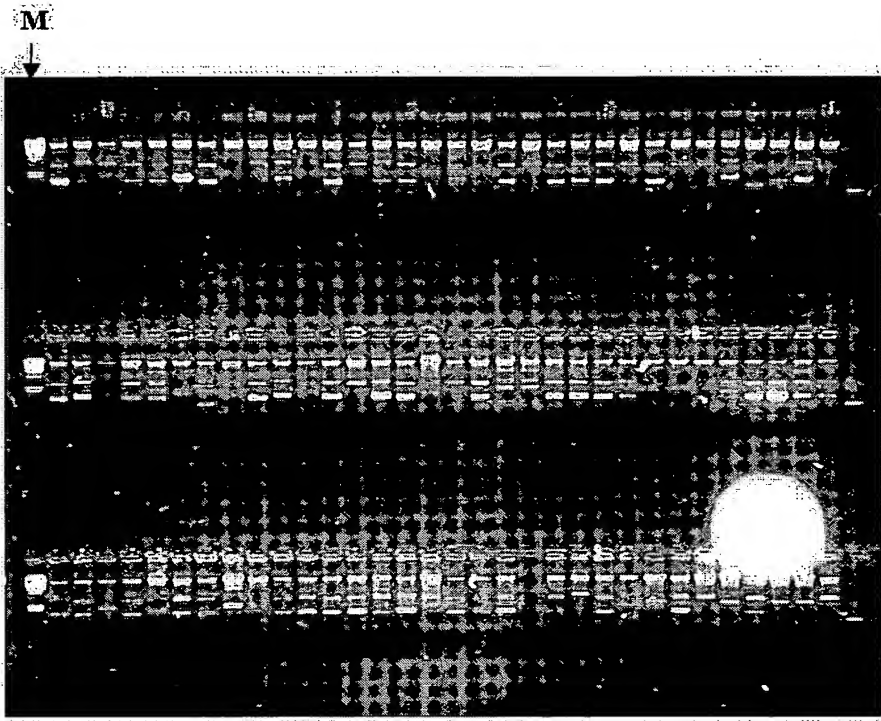
제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 따른 DNA 칩을 포함하는 유전자 발현 분석용 키트.

【도면】

【도 1】

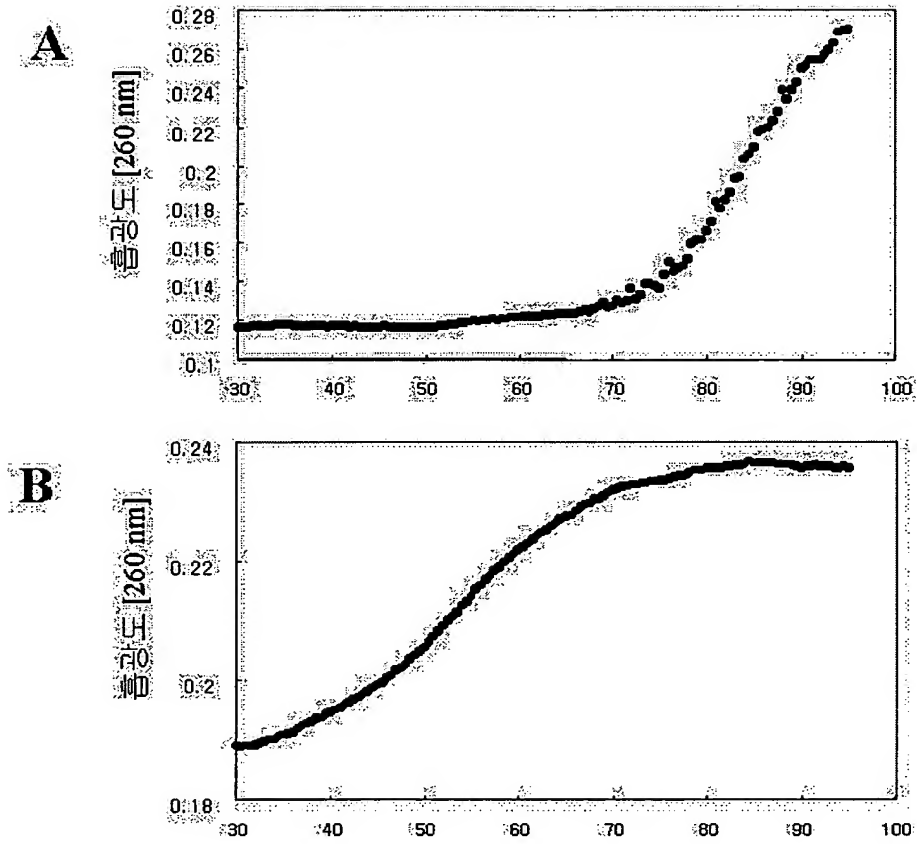


【도 2】

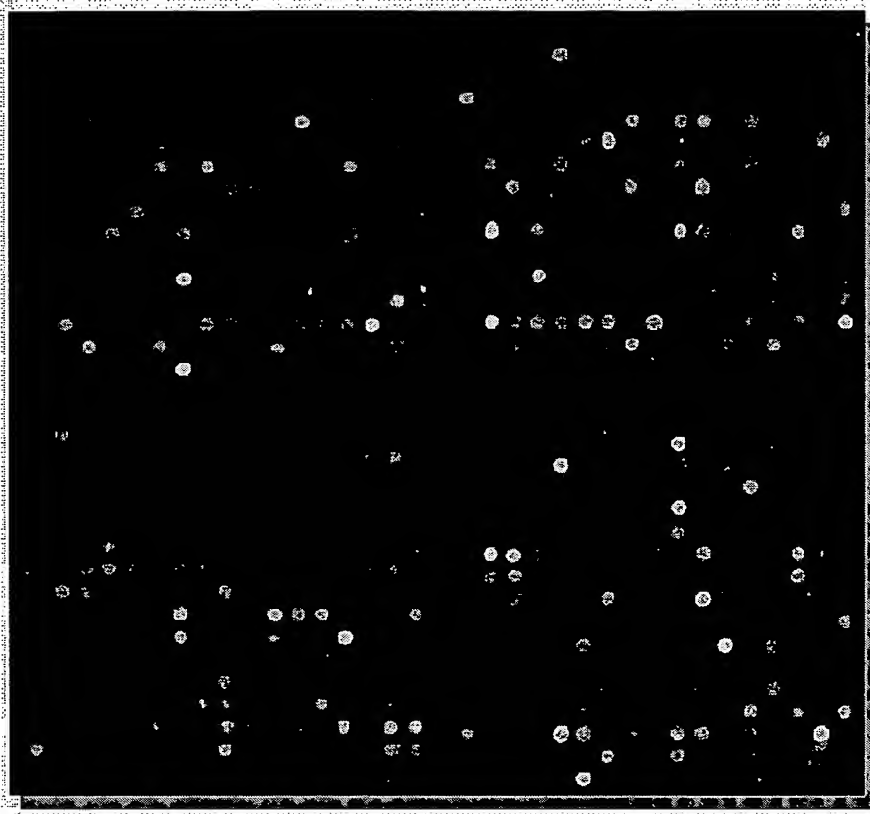




【도 3】



【도 4】



【도 5】

